

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

**UTILISATION DE CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS
DANS LE PROCESSUS DE PHYTORESTAURATION
DE SOLS CONTAMINÉS AUX MÉTAUX LOURDS**

**THÈSE PRÉSENTÉE À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI COMME
EXIGENCE PARTIELLE DU DOCTORAT EN RESSOURCES MINÉRALES OFFERT
À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL EN VERTU D'UN PROTOCOLE
D'ENTENTE AVEC L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI**

**PAR
PHILIPPE GIASSON**

DÉCEMBRE 2005



Mise en garde/Advice

Afin de rendre accessible au plus grand nombre le résultat des travaux de recherche menés par ses étudiants gradués et dans l'esprit des règles qui régissent le dépôt et la diffusion des mémoires et thèses produits dans cette Institution, **l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** est fière de rendre accessible une version complète et gratuite de cette œuvre.

Motivated by a desire to make the results of its graduate students' research accessible to all, and in accordance with the rules governing the acceptance and diffusion of dissertations and theses in this Institution, the **Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** is proud to make a complete version of this work available at no cost to the reader.

L'auteur conserve néanmoins la propriété du droit d'auteur qui protège ce mémoire ou cette thèse. Ni le mémoire ou la thèse ni des extraits substantiels de ceux-ci ne peuvent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

The author retains ownership of the copyright of this dissertation or thesis. Neither the dissertation or thesis, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

UNIVERSITY OF QUEBEC AT MONTREAL

**USE OF MYCORRHIZAL FUNGI
IN THE PROCESS OF PHYTOREMEDIATION
OF HEAVY METAL CONTAMINATED SOILS**

**THESIS PRESENTED AT THE UNIVERSITY OF QUEBEC AT CHICOUTIMI AS A
PARTIAL REQUIREMENT OF THE DOCTORATE IN MINERAL RESOURCES
OFFERED TO UNIVERSITY OF QUEBEC AT MONTREAL IN ACCORDANCE TO
AN AGREEMENT PROTOCOL WITH THE UNIVERSITY OF QUEBEC AT
CHICOUTIMI**

**BY
PHILIPPE GIASSON**

DECEMBER 2005

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à témoigner ma reconnaissance envers Alfred Jaouich, mon directeur de thèse, qui était toujours disponible pour partager son temps et ses connaissances et qui m'a encouragé tout au long de mes études universitaires.

Je tiens aussi à remercier toute l'équipe de Biotechnologie de Premier Tech : dont mon co-directeur Serge Gagné, Peter Moutoglis, Marc Béland, Patrick Lebrasseur, Dominique Lequeré et les autres membres du laboratoire pour leur soutien scientifique et pour leur aide dans les expériences *in vitro* en laboratoire.

Également, je veux remercier Luc Massicotte de SNC-Lavalin Environnement pour son soutien technique et scientifique dans les expériences sur le terrain.

Je suis aussi reconnaissant envers l'équipe technique de l'Institut des sciences de l'environnement de l'UQAM : Pierre Cayer, Nicolas Sbarrato, Simon Dutil-Paquette et Sophie Tran pour leur assistance dans les milliers d'analyses de sol, de tissus végétaux, et de mycorhizes.

Je remercie le Fonds d'Action Québécois pour le Développement Durable (FAQDD), le Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies (FQRNT), et le Programme d'Aide à la Recherche et à la Création (PAFARC) de l'UQAM pour leur appui financier.

Enfin, je dédie cette thèse à Isabelle, Océane et Maëva.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES TABLEAUX	x
RÉSUMÉ	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCTION	1
Problématique	1
Objectifs	10
Méthodologie	10
Références	12
 CHAPITRE 1	
MYCORRHIZOREMEDIATION OF HEAVY METALS (AS, CD, SE, ZN)	
CONTAMINATED SOIL BY AM FUNGI, <i>GLOMUS</i> AND <i>GIGASPORA</i> SPP.,	
AND GRASSES AND CLOVER MIX – A GLASSHOUSE STUDY	17
Résumé	18
Abstract	19
Introduction	20
Materials and methods.....	22
Results ans discussion	25
Acknowledgements	33
References	34
 CHAPITRE 2	
PHYTOREMEDIATION OF ZINC AND CADMIUM: A STUDY OF	
ARBUSCULAR MYCORRHIZAL HYPHAE	47
Résumé	48
Abstract	49
Introduction	50
Materials and methods.....	52
Results ans discussion	53

Acknowledgements	57
References	58

CHAPITRE 3

ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI INVOLVEMENT IN ZN AND CD SPECIATION CHANGE AND PHYTOACCUMULATION.....

Résumé	68
Abstract	69
Introduction	70
Material and methodology	71
Results and discussion	72
Acknowledgements	74
References	75

CHAPITRE 4

PHYTORESTAURATION DES SITES CONTAMINÉS: MÉTHODES DE DISPOSITION DES PLANTES RÉCOLTÉES

Résumé	84
Introduction	85
Description des essais de phytorestauration	86
Compostage de la végétation récoltée en phytorestauration	87
Incinération de la végétation récoltée en phytorestauration et récupération des métaux.....	94
Conclusion	96
Remerciements.....	97
Références	98

CONCLUSION GÉNÉRALE

Références	103
------------------	-----

ANNEXE 1

TAUX D'ASSIMILATION DES CONTAMINANTS ET TEMPS DE PHYTORESTAURATION

Références	108
------------------	-----

ANNEXE 2

ORIGINE ET SPÉCIATION DES MÉTAUX LOURDS DANS LES SOLS

Références	124
------------------	-----

ANNEXE 3	
LA GÉOCHIMIE DES MÉTAUX LOURDS DANS LES SOLS CONTAMINÉS	125
Références	150

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1	Nombre total de terrains contaminés par catégorie de contaminants (MENV, 2001).....2
1.2	Répartition des terrains (2 632) selon la technique de réhabilitation employée d'après la Banque de données sur les terrains contaminés du MENV (MENV, 2001). On remarque que 71% des terrains auraient été réhabilités par des techniques de confinement sécuritaire.3
1.3	Schéma d'application de la technologie de phytorestauration aux sols contaminés aux métaux. Les racines séquestrent et assimilent les métaux lourds. Ces métaux sont ensuite transférés vers les parties aériennes de la plante (phytoaccumulation). Les plantes sont finalement récoltées et traitées en dehors du site. Certains métaux peuvent aussi être stabilisés par la rhizosphère dans la matrice du sol (phytostabilisation), ou encore être volatilisés par les feuilles sous leur forme méthylée (phytovolatilisation).....4
1.4	Organigramme représentant les différentes expériences (en serre, <i>in vitro</i> , et sur le terrain) menées en séquence ou en parallèle pour répondre aux objectifs de la thèse.11
2.1	Root mycorrhizal infection by <i>G. intraradices</i> (M%) and absolute arbuscule richness (A%) for all soil heavy metal treatments. (Cd = 20µg/g; Cd+ = 200µg/g; Zn = 1500µg/g; Zn+ = 10,000µg/g; As = 50µg/g; As+ = 500µg/g; Se = 10µg/g; Se+ = 100µg/g; Pb = 1000µg/g; Pb+ = 10,000µg/g; and Mix = (Cd = 20µg/g, ; Zn = 1500µg/g; As = 50µg/g; Se = 10µg/g; and Pb = 1000µg/g)). Bars indicate standard deviation. <i>n</i> =5.....42
2.2	Effect of mycorrhizal inoculation on cadmium (Cd) extraction by plants (Mix of <i>Festuca rubra</i> , <i>F. eliator</i> , <i>Agropyron repens</i> and <i>Trifolium repens</i>) in a ProMix BX™ soil contaminated with (A, D) 20µg/g Cd; (B, E) 200µg/g Cd; (C, F) 20µg/g Cd in combination with Zn (1500µg/g), Pb (1000µg/g), Se (10µg/g) and As (50µg/g). A to C represent Cd content in plants while D to F represent Cd mass extracted from soil. Bars indicate standard error. <i>n</i> = 5.43

2.3	Effect of mycorrhizal inoculation on zinc (Zn) extraction by plants (Mix of <i>Festuca rubra</i> , <i>F. eliator</i> , <i>Agropyron repens</i> and <i>Trifolium repens</i>) in a ProMix BX TM soil contaminated with (A, D) 1500µg/g Zn; (B, E) 10,000µg/g Zn; (C, F) 1500µg/g Zn in combination with Cd (20µg/g), Pb (1000µg/g), Se (10µg/g) and As (50µg/g). A to C represent Zn content in plants while D to F represent Zn mass extracted from soil. Bars indicate standard error. $n = 5$.	44
2.4	Effect of mycorrhizal inoculation on arsenic (As) extraction by plants (Mix of <i>Festuca rubra</i> , <i>F. eliator</i> , <i>Agropyron repens</i> and <i>Trifolium repens</i>) in a ProMix BX TM soil contaminated with (A, D) 50µg/g As; (B, E) 500µg/g As; (C, F) 50µg/g As in combination with Cd (20µg/g), Zn (1500µg/g), Pb (1000µg/g), and Se (10µg/g). A to C represent Cd content in plants while D to F represent Cd mass extracted from soil. Bars indicate standard error. $n = 5$.	45
2.5	Effect of mycorrhizal inoculation on selenium (Se) extraction by plants (Mix of <i>Festuca rubra</i> , <i>F. eliator</i> , <i>Agropyron repens</i> and <i>Trifolium repens</i>) in a ProMix BX TM soil contaminated with (A, D) 10µg/g Se; (B, E) 100µg/g Se; (C, F) 10µg/g Se in combination with Cd (20µg/g), Zn (1500µg/g), Pb (1000µg/g) and As (50µg/g). A to C represent Se content in plants while D to F represent Se mass extracted from soil. Bars indicate standard error. $n = 5$.	46
3.1	View of a compartmented Petri after 17 weeks. Modified <i>Glomus intraradices</i> colonized carrot (<i>Daucus carota</i> L.) roots were grown on the proximal side in M media. Because of negative geotropism, only hyphae were able to pass to the distal side containing either Zn ²⁺ or Cd ²⁺ .	62
3.2	Well developed hyphal architecture and spores multiplication after 10 weeks (Petri distal side, 25X) (M media: Cd 5 µg/g). More than 16,000 spores per half <i>Petri</i> plates were counted. Same effect on hyphal architecture and sporulation was noticed in M media containing 100 µg/g Zn (not shown here).	63
3.3	Hyphal network with only few spores after 10 weeks (Petri distal side, 25X) (M media: Cd 20 µg/g). Spore population was approximately 1,500 per half <i>Petri</i> plates. Note the spiral shaped hyphae as a response to high Cd exposure. Same effect on hyphal architecture was noticed in M media containing 500µg/g Zn (not shown here).	64
3.4	<i>In vitro</i> Experiment: Zinc concentrations in <i>Glomus intraradices</i> colonized carrot roots (Proximal side) Vs M Media (Distal side). Bars indicate standard error ($n=10$).	65

3.5	<i>In Vitro</i> Experiment: Cadmium concentrations in <i>Glomus intraradices</i> colonized carrot roots (Proximal side) Vs M Media (Distal side). Bars indicate standard error (n=10).	66
4.1	View of a compartmented Petri after 17 weeks. Modified <i>Glomus intraradices</i> colonized carrot roots are grown on the proximal side in M media. Only hyphae are able to cross over to the distal side containing either ZnCO_3 or CdCO_3 . Note the spore formation in the distal side.	77
4.2	View of <i>Glomus intraradices</i> hyphae and spores in petri distal side containing 20ppm Cd in CdCO_3 form. Note the well-developed hyphal architecture. (25X). Same effect on hyphal architecture and sporulation is noticed in M media containing 200ppm Cd in CdCO_3 form (not shown here).	78
4.3	Zinc sequential speciation extracting agent and extraction percentage in a contaminated soil near a zinc smelter. Total Zn soil concentration: 10600ppm.	79
4.4	Cadmium sequential speciation extracting agent and extraction percentage in a contaminated soil near a zinc smelter. Total Cd soil concentration: 50ppm.	80
4.5	<i>In vitro</i> Experiment: Solubilization of ZnCO_3 by Hyphae and Uptake of Zn by <i>Glomus intraradices</i> Colonized Carrot Roots. Bars indicate standard error (n=10).	81
4.6	<i>In vitro</i> Experiment: Solubilization of CdCO_3 by Hyphae and Uptake of Cd by <i>Glomus intraradices</i> Colonized Carrot Roots. Bars indicate standard error (n=10).	82
5.1	Schéma d'application de la technologie de phytorestauration aux sols contaminés aux métaux. Les courbes représentent les racines qui séquestrent et assimilent les métaux lourds. Ces métaux sont ensuite transférés vers les parties aériennes des plantes. Ces dernières sont finalement récoltées et traitées en dehors du site (Giasson et Jaouich, 1998).	85
5.2	Photo du site prise le 20 juillet 2002.	87
5.3	Photo du composteur domestique (1.1m x 1.1m x 1.1m).	88

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
2.1	Glasshouse experiment 1. Effect of different arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal extraction by a grass mix of <i>Festuca rubra</i> , <i>F. eliator</i> , <i>Agropyron repens</i> , and <i>Trifolium repens</i> . Soil heavy metal content: 50µg/g As, 1500µg/g Zn and 10µg/g Se. Values followed by the same letter are not significantly different according to Duncan Multiple Range Test ($p \leq 0.05$). $n = 5$ 41
5.1	Suivi des températures dans le compost..... 90
5.2	Interventions et suivi des températures au printemps 2003..... 92
5.3	Comparaison des teneurs en métaux lourds (ppm) dans le sol, dans la végétation récoltée sur ce sol, et dans le compost élaboré à partir de ces plantes récoltées par rapport au critères de compost de catégories C1 et C2. 93
5.4	Teneurs en métaux lourds dans les sols, les tissus végétaux, les cendres des végétaux, et le facteur de concentration cendre:tissus. Les teneurs en métaux dans la sphalérite sont aussi présentées ainsi que la température d'ébullition des différents métaux. 95

RÉSUMÉ

Le problème des sols contaminés est aujourd'hui très préoccupant pour les pays industrialisés. En janvier 2001, le Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec dénombrait un total de 5125 terrains contaminés sur son territoire. Les métaux lourds forment la troisième catégorie de contaminants les plus courants dans ces terrains. Récemment, la valeur de plantes accumulatrices de métaux a été reconnue pour la restauration de l'environnement et a donné naissance à une nouvelle technologie, la "phytorestauration". Toutefois, la recherche doit être poursuivie au niveau de l'augmentation de l'assimilation des métaux lourds par la végétation. Or, c'est principalement à ce niveau qu'intervient le rôle des champignons mycorhiziens. Ces champignons microscopiques, qu'on retrouve naturellement dans le sol, s'associent aux racines des plantes et forment un réseau mycélien (hyphes filamenteux) très élaboré dans le sol. Le but principal de ce projet de recherche et développement est d'étudier l'impact de la colonisation mycorhizienne appliquée à la phytorestauration des sols contaminés aux métaux lourds (As, Se, Zn, Pb, et Cd). Des expériences en milieux contrôlés (serre et *in vitro*) ont été menées en parallèle à des essais sur le terrain. Des variations interspécifiques existent entre les endomycorhizes vis-à-vis la translocation des métaux dans la végétation. Des expériences en serre ont montré que l'extraction de métaux (Zn, Cd, As, et Se) est généralement plus élevée dans les plantes colonisées par *Glomus intraradices* que dans les plantes contrôles non-colonisées, dépendamment de la concentration du métal dans le sol et selon qu'il interagit avec d'autres métaux. Toutefois, l'extraction des métaux par les graminées colonisées atteint un plateau après une période de deux mois. Dans les expériences *in vitro*, les métaux essentiels (zinc) et non-essentiels (cadmium) sont séquestrés par les hyphes endomycorhiziens extraradiculaires et transférés aux racines. De plus, en présence de métaux lourds sous une forme carbonatée non-disponible aux plantes, les hyphes endomycorhiziens peuvent changer le zinc et le cadmium dans une espèce soluble dans l'eau et biodisponible. Finalement, la végétation récoltée sur un site en phytorestauration est une matière résiduelle fertilisante qui peut être compostée pour donner un compost qui répond aux critères de catégorie C2, *i.e.* qui n'a aucune restriction quant au lieu de son utilisation. Les plantes récoltées peuvent aussi être incinérées à basse température (500°C) pour ensuite recycler les métaux concentrés dans les cendres par des techniques de chélation ou en les acheminant vers les fours des fonderies de métaux à titre de minerai.

Mots clés: Sols contaminés, Métaux lourds, Arsenic, Cadmium, Plomb, Sélénium, Zinc, Phytorestauration, Champignons mycorhiziens à arbuscules, Modes de disposition.

ABSTRACT

Problems with contaminated soils are very preoccupying these days in industrialised countries. In January 2001, 5125 contaminated soils were reported in the Province of Quebec only. Heavy metals were the third most frequent category of contaminants in these soils. Recently, metal accumulating plants were valued for cleaning the environment and a new technology called phytoremediation aroused. However, research in this field must be pursued to enhance heavy metal assimilation by plants. Here is where mycorrhizal fungi can be useful. These naturally occurring microscopic fungi associate with plant roots and form a very well elaborated mycelium network (hyphae) in soil. The main objective of this research is to study the impact of mycorrhizal colonisation applied to phytoremediation of heavy metals (As, Se, Zn, Pb, and Cd) contaminated soils. Experiments were conducted in controlled environments (greenhouse and *in vitro*) in parallel with field trials. Interspecific variations exist in arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) towards heavy metal translocation by vegetation. Greenhouse experiments showed that heavy metals (Zn, Cd, As, and Se) extraction is generally higher in plants colonised by *Glomus intraradices* than in uncolonised plants depending on soil heavy metal concentrations and on heavy metal interactions. However, metals extraction by colonised grass species reaches a plateau after a two month period. In the *in vitro* experiments, essential metals (zinc) and non-essential metals (cadmium) are sequestered by AMF extraradical hyphae and transferred to roots. Moreover, in presence of heavy metals in a non-available carbonated form, AMF hyphae are able to change zinc and cadmium in a water soluble and bioavailable form. Finally, vegetation harvested on a field in phytoremediation is a fertilising residual matter that can be composted and used as a compost that falls within category C2, *i.e.* that has no restriction as to where to use it. Harvested plants can also be incinerated at low temperature (500°C) and metals concentrated in ashes can be recycled by chelating methods or by forwarding plants to smelters as ore.

Key words: Contaminated soils, Heavy metals, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, Zinc, Phytoremediation, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Disposal methods.

INTRODUCTION

PROBLÉMATIQUE

Le problème des sols contaminés est aujourd'hui très préoccupant pour les pays industrialisés (Gowen Environmental, 2003). En décembre 2001, le Ministère de l'Environnement Québec dénombrait un total de 5125 terrains contaminés sur son territoire. Les régions de Montréal (1000 terrains) et de la Montérégie (1750 terrains) totalisent à elles seules près de la moitié de l'ensemble des terrains contaminés (MENV, 2001). Les métaux lourds (19%) forment la troisième catégorie (Figure 1.1) de contaminants les plus courants dans ces 5125 terrains (MENV, 2001). Au Canada, le nombre total de sites contaminés par les métaux est présentement indéterminé mais on peut estimer qu'il en existe au moins 22 000 (McIntyre, 2003). L'origine et la spéciation des métaux lourds dans les sols est expliquée à l'annexe 2. De plus, l'annexe 3 démontre la géochimie des métaux lourds dans les sols contaminés.

D'après la Banque de données sur les terrains contaminés du MENV (Figure 1.2), on remarque que 71% des terrains réhabilités l'auraient été par des techniques de confinement sécuritaire (MENV, 2001). Ces techniques ne sont pas des méthodes de destruction des contaminants mais plutôt des moyens de confinement temporaire (Berkowitz et Farkas, 1992). On ne fait que déplacer le problème de contamination ailleurs.

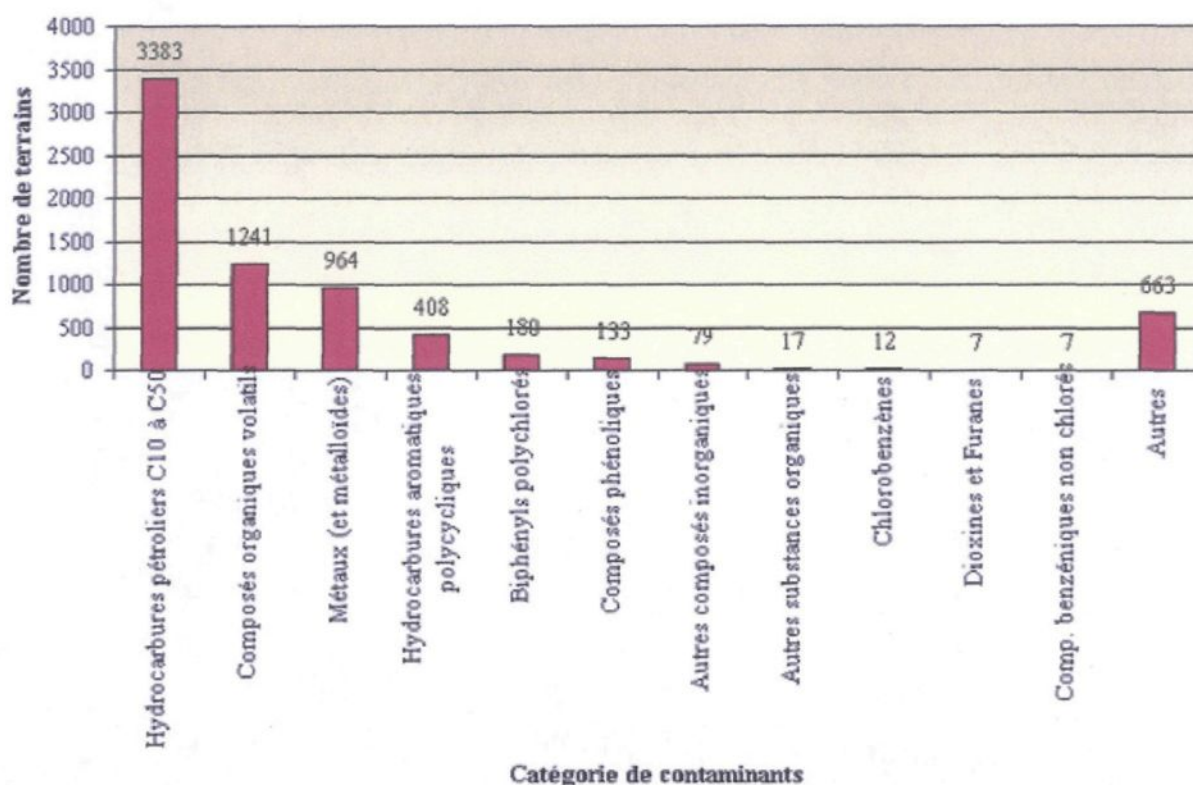


Figure 1.1 Nombre total de terrains contaminés par catégorie de contaminants (MENV, 2001).

Récemment, la valeur de plantes accumulatrices de métaux a été reconnue pour la restauration de l'environnement et a donné naissance à une nouvelle technologie, la "phytorestauration" (Blaylock, 2000). Cette technologie, biologique et *in situ* (sans excavation), pourrait s'avérer efficace contre les contaminants organiques comme les produits pétroliers et inorganiques comme les métaux lourds. La phytorestauration pour la décontamination d'un site réduit les coûts d'opération. Par exemple, la phytorestauration d'un site contaminé au plomb, incluant la disposition de la biomasse en dehors du site, varie entre 20 et 80\$US la tonne, tandis que la rémédiation conventionnelle de ce sol par excavation et enfouissement est approximativement de 150 à 350\$US la tonne (Ensley, 2000).

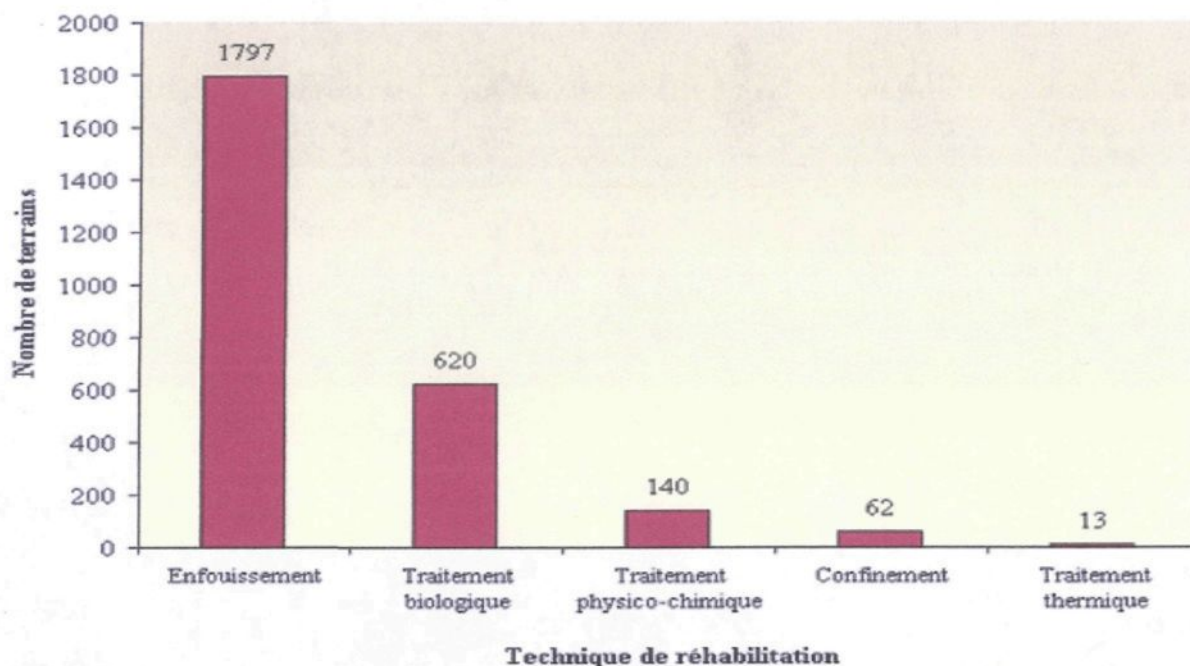


Figure 1.2 Répartition des terrains (2 632) selon la technique de réhabilitation employée d'après la Banque de données sur les terrains contaminés du MENV (MENV, 2001). On remarque que 71% des terrains auraient été réhabilités par des techniques de confinement sécuritaire.

La phytorestauration fonctionne à l'énergie solaire, et elle est plus facile d'opération que la traditionnelle méthode d'excavation et de confinement. Cette technologie peut s'appliquer sur de grandes superficies et générer des résidus riches en métaux recyclables. De plus, la phytorestauration ne cause pas de perturbation à l'environnement et est mieux acceptée par le public (Flathman et Lanza, 1998).

La phytorestauration de sols contaminés aux métaux lourds est expliquée à l'aide de la figure 1.3. Les racines séquestrent et assimilent les métaux lourds. Ces métaux sont ensuite transférés vers les parties aériennes de la plante (phytoaccumulation). Les plantes sont finalement récoltées et traitées en dehors du site. Pour faciliter la récolte et minimiser l'exposition des travailleurs aux poussières et débris, les recherches ne portent principalement que sur la récolte des parties aériennes de la plante. Il est toutefois possible de récolter les racines. Des calculs versés à l'annexe I permettent d'estimer le

taux d'assimilation des métaux lourds par la végétation et le temps de restauration d'un terrain contaminé.

Les modes de disposition des plantes récoltées sont soit par incinération et récupération (ex. chélation) des métaux dans les cendres ou soit par compostage de la biomasse végétale (Kumar *et al.*, 1995). Certains métaux peuvent aussi être stabilisés par la rhizosphère dans la matrice du sol (phytostabilisation), ou encore être volatilisés par les feuilles sous leur forme méthylée (phytovolatilisation).

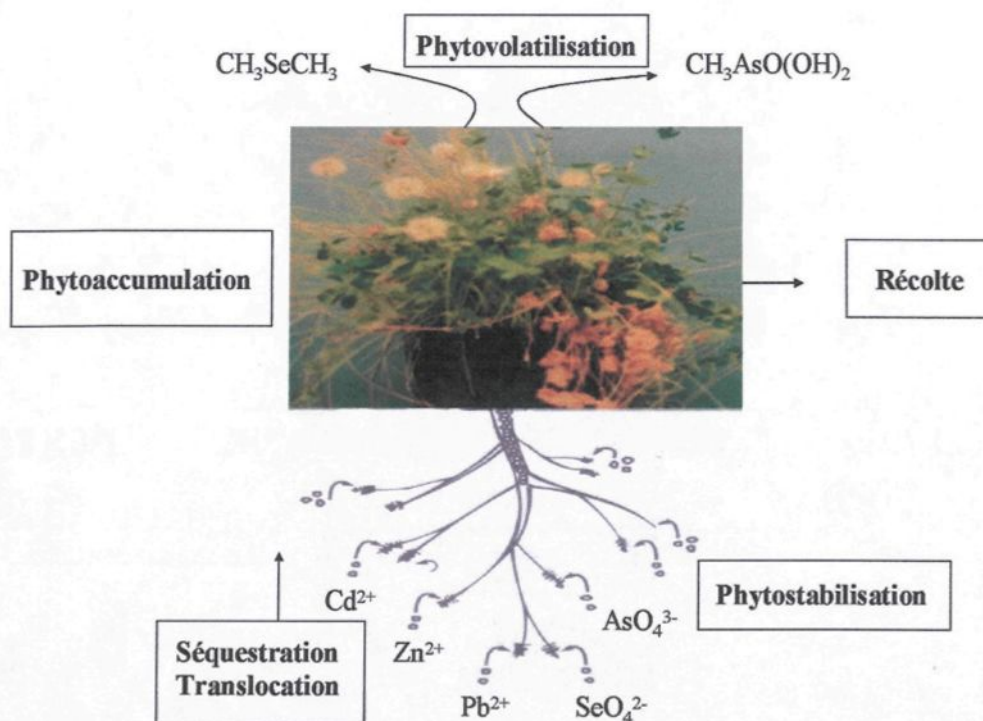


Figure 1.3 Schéma d'application de la technologie de phytorestauration aux sols contaminés aux métaux. Les racines séquestrent et assimilent les métaux lourds. Ces métaux sont ensuite transférés vers les parties aériennes de la plante (phytoaccumulation). Les plantes sont finalement récoltées et traitées en dehors du site. Certains métaux peuvent aussi être stabilisés par la rhizosphère dans la matrice du sol (phytostabilisation), ou encore être volatilisés par les feuilles sous leur forme méthylée (phytovolatilisation).

En phytorestauration, on retrouve les 10 mécanismes suivants :

- Phytoextraction
- Rhizofiltration
- Phytovolatilisation
- Phytodégradation
- Phytostimulation
- Phytostabilisation
- Corridor riparien
- Bande tampon
- Couvert végétal
- « Phytomining »

La phytoextraction consiste en l'assimilation et le stockage de contaminants (métaux lourds, noyaux radioactifs) dans les parties aériennes (feuilles, fruits, tiges) de la plante. Une fois les contaminants accumulés dans les plantes, celles-ci peuvent être récoltées. Les plantes sont alors incinérées ou recyclées pour récupérer les métaux de valeur (ex. Ni, Cu).

La rhizofiltration ressemble à la phytoextraction mais en milieu hydroponique. Les racines des plantes sont utilisées pour absorber, concentrer et précipiter les contaminants organiques et inorganiques d'effluents pollués. Des plantes aquatiques ont été utilisées comme la jacinthe d'eau, la scirpe, la lentille d'eau, *Hydrocotyle umbellata*, et *Azolla pinnata*. Toutefois, les plantes aquatiques présentent certains inconvénients: elles sont petites et possèdent de petites racines qui ne poussent pas rapidement. De plus, elles ont une concentration en eau élevée, ce qui rend compliqué leur séchage, compostage et incinération (Dushenkov *et al.*, 1995). Contrairement aux plantes aquatiques, les plantes terrestres comme *Brassica juncea* (moutarde) développent un système racinaire plus long, plus fibreux et couvert de poils, créant ainsi une surface spécifique très élevée. On ne doit viser que la translocation des contaminants vers les racines, pas vers les parties aériennes. La rhizofiltration peut s'appliquer au traitement de l'eau de surface et souterraine; aux effluents industriels (raffineries de pétrole, centrales électriques); aux

effluents résidentiels; aux écoulements de drainage miniers acides; et aux boues d'épuration diluées.

La phytovolatilisation implique l'assimilation et l'évaporation des contaminants organiques (TCE) et inorganiques (Hg, Pb, As et Se) par la plante. Ce mécanisme prend un contaminant solide ou liquide et le transforme en gaz. Les contaminants peuvent soit être évaporés tel quel ou soit métabolisés par la plante sous leur forme volatile.

La phytodégradation utilise les plantes pour métaboliser les polluants organiques. Lorsque le contaminant (ex. atrazine, TCE, BPC, HAP, TNT) est assimilé par la plante il s'accumule dans les tissus de la plante où il est dégradé par des enzymes (nitroréductase, déhalogénase) en $H_2O + CO_2$ + sous-produits plus ou moins toxiques. Certains enzymes dégradent et convertissent des rejets d'explosifs (TNT), d'autres dégradent des solvants chlorés comme le TCE, tandis que d'autres dégradent des herbicides comme l'atrazine et les incorporent dans de nouvelles fibres végétales (Schnoor, 1997).

La phytostimulation stimule la biorestauration de la rhizosphère. Les plantes sécrètent des exsudats racinaires (O_2 , sucres, alcools, et acides) qui, au lieu d'attirer des micro-organismes, vont les stimuler à dégrader et minéraliser directement les substances toxiques dans la matrice du sol. Les micro-organismes du sol (levures, champignons, ou bactéries) consomment et digèrent les substances organiques comme substrat et énergie. Certains micro-organismes peuvent dégrader des contaminants organiques comme des hydrocarbures ou des solvants qui sont dangereux pour l'humain et les transformer en composés inoffensifs par un processus de biodégradation.

La phytostabilisation consiste en l'isolation et la stabilisation des contaminants (organiques et inorganiques) dans la matrice du sol. Les racines végétales excrètent des exsudats qui peuvent altérer la chimie du sol et provoquer une précipitation des polluants, les rendant moins biodisponibles et moins toxiques. Par exemple, des

oxyhydroxydes de fer fixent le Pb dans le sol. Les plantes stabilisent ensuite le sol en prévenant l'érosion. Ainsi, les métaux lourds sont transformés ou retenus hors de la portée des enfants ou des animaux et les risques de géophagie sont diminués.

Le corridor riparien est un corridor végétal pour contrôler, intercepter, ou restaurer une contamination entrant vers une rivière ou une nappe d'eau souterraine. Le corridor riparien réfère aux plantes semées le long d'un cours d'eau, tandis que la bande tampon peut être appliquée autour du périmètre d'un site d'enfouissement. Ces deux mécanismes impliquent des aspects de phytodégradation, de phytovolatilisation et de phytostimulation.

Le couvert végétal est un couvert à long terme et autosuffisant composé de sol et de plantes croissant au dessus d'un site d'enfouissement. Ce type de couvert est une alternative aux géomembranes naturelles d'argile ou aux membranes plastiques. Les plantes contrôlent l'érosion et minimisent l'infiltration de l'eau qui pourrait percoler à travers le site d'enfouissement et former des lixiviats contaminés. De plus, le couvert végétal peut être conçu non seulement pour contrôler l'érosion et l'infiltration de l'eau, mais aussi pour augmenter la dégradation des matériaux sous-jacents dans le site.

Finalement, le « phytomining » est l'exploitation minière à l'aide de plantes. Ce dernier mécanisme de phytorestauration en est encore à ses débuts, il date de 1995 (Brooks and Robinson, 1998). L'objectif est d'extraire des métaux lourds ayant une valeur économique intrinsèque (Ni, Cu) ou des métaux précieux (Au, Ar) à l'aide de plantes. Le phytomining se fait sur des dépôts de surface trop pauvres pour une exploitation minière directe du sol. Par exemple, sur des sols de serpentine riches en Ni, Mg, Cr, Ti, et Fe, une plante hyperaccumulatrice, *Streptanthus polygaloides*, peut par exemple extraire plus de 110 kg de Ni par ha. Théoriquement, avec 110 kg/ha de Ni, on peut obtenir sur le marché boursier 1540\$US. Si les profits énergétiques obtenus du processus

d'incinération sont ajoutés et si 50% de cette somme est remise au cultivateur, la valeur de la récolte devient environ 986\$US, soit bien au dessus d'une récolte de blé!

Le potentiel de la phytorestauration a déjà été démontré par de nombreuses recherches effectuées aux Etats-Unis, et dans une douzaine d'autres pays dont le Canada (Baker *et al.*, 1988; Kumar *et al.*, 1995; Giasson and Jaouich, 1998; Salido *et al.*, 2003). Toutefois, la recherche doit être poursuivie pour augmenter la biomasse et l'accumulation des métaux lourds dans la végétation. Or, c'est principalement à ce niveau qu'intervient le rôle des champignons mycorhiziens. Ces champignons microscopiques, qu'on retrouve naturellement dans le sol, s'associent aux racines des plantes et forment un réseau mycélien (hyphes filamenteux) très élaboré dans le sol. Cette association a pour effet d'accroître la surface de contact de la plante avec le sol. En colonisant les racines, le champignon favorise la croissance et le développement des plantes en rendant plus accessibles les éléments du sol (George *et al.*, 1992; Nadian, *et al.*, 1997) et en favorisant une plus grande absorption de l'eau (Sweatt et Davis, 1984; Cui et Nobel, 1992). Ainsi, la colonisation mycorhizienne améliore grandement l'établissement et la survie des végétaux particulièrement dans des situations de conditions adverses telles que sécheresse et sols peu fertiles (Jasper *et al.* 1989; Allen *et al.* 1996; Smith *et al.*, 1998). Les champignons mycorhiziens contribuent également à améliorer la structure du sol en favorisant la formation d'agrégats (Thomas *et al.*, 1993; Jastrow *et al.*, 1998). Comme les sites contaminés qui doivent être restaurés sont généralement reconnus comme étant pauvres en éléments nutritifs et sont souvent constitués de sols dont la structure est fortement altérée (notamment la plupart des sols faits de remblais dans les grandes villes comme Montréal), les champignons mycorhiziens peuvent jouer un rôle important dans l'établissement des végétaux pour des fins de phytorestauration.

D'autre part, depuis une vingtaine d'années, plusieurs travaux de recherche ont démontré que la colonisation mycorhizienne pouvait avoir un impact sur l'assimilation des métaux par les végétaux (Bradley *et al.*, 1981; Gildon et Tinker, 1983). Dehn et Schüepp (1989)

ont montré qu'une infection mycorhizienne augmentait l'assimilation des métaux lourds dans les racines des plants de laitue mais pas dans les parties aériennes. En contradiction, des expériences menées par Angle *et al.* (1988) et Lambert et Weidensaul (1991) ont révélé que les mycorhizes amélioraient significativement l'assimilation des métaux lourds dans les parties aériennes de plantes de la famille des légumineuses (soja et luzerne). Killham et Firestone (1983), Hetrick *et al.* (1994), Mohammad *et al.* (1995), de même que Burke *et al.* (2000) ont obtenu des résultats semblables avec des graminées (maïs). Ces études portent principalement sur des espèces de plantes comestibles croissant sur des sols à faibles teneurs en métaux lourds. Au niveau de la phytorestauration de sols contaminés au césium (Cs) et au strontium (Sr), Entry *et al.* (1999) ont montré que les plantes mycorhizées produisaient une plus grande biomasse et des concentrations plus élevées en Cs et Sr que dans les plantes non mycorhizées. D'autre part, il a également été démontré que l'infection mycorhizienne pouvait favoriser une plus grande résistance contre l'effet phytotoxique de certains métaux (Dueck *et al.*, 1986; Weissenhorn *et al.*, 1995).

Finalement, il faut noter l'impact variable de la mycorhization sur l'accumulation des métaux lourds selon l'espèce de plante, la souche de champignon mycorhizien utilisés et le type de métal lourd présent dans le sol. Par ailleurs, aucune recherche en phytorestauration ne portent sur des espèces de plantes indigènes au Québec, à biomasse élevée, colonisées par des endomycorhizes et croissant sur des terrains fortement contaminés par une gamme de métaux lourds les plus courants dans ces terrains, notamment As, Se, Zn, Pb, et Cd.

OBJECTIFS

Le but principal de ce projet de recherche et de développement est d'étudier l'impact de la colonisation mycorhizienne appliquée à la phytorestauration des sols contaminés aux métaux lourds (As, Cd, Pb, Se, et Zn) à l'aide de plantes indigènes au Québec et à biomasse élevée. Les objectifs spécifiques sont :

- étudier l'influence de la colonisation mycorhizienne sur l'accumulation de divers métaux lourds (As, Cd, Pb, Se, et Zn) à concentrations élevées et extrêmes dans le sol par différentes espèces de plantes;
- identifier les combinaisons plantes/champignons mycorhiziens les plus performantes;
- déterminer les mécanismes d'action par les racines mycorhizées vis à vis de l'absorption des métaux lourds;
- déterminer les mécanismes d'action par les racines mycorhizées vis à vis la spéciation des métaux lourds;
- tester différents modes de disposition des plantes récoltées (compostage, incinération, recyclage).

MÉTHODOLOGIE

La phytorestauration de sols contaminés aux métaux lourds consiste en la séquestration et l'assimilation des métaux par les racines des plantes, la translocation vers les parties aériennes, et la récolte et le traitement des plantes. L'approche retenue est l'utilisation de champignons mycorhiziens dans le processus de phytorestauration de sols contaminés aux métaux lourds (As, Se, Zn, Pb, et Cd qui sont parmi les plus fréquents dans les sols contaminés (MENV, 2001)) dans le but de rehausser la séquestration et l'assimilation des métaux par les racines et ainsi augmenter les concentrations métalliques dans les tissus végétaux.

Toutes les expériences ont été menées afin de converger vers l'atteinte des objectifs de la thèse. Le projet a comporté des expériences en serre et en laboratoire (*in vitro*) qui sont venu appuyer des essais menés sur le terrain. Ces expériences ont été conduites en parallèle selon l'organigramme de la Figure 1.4.

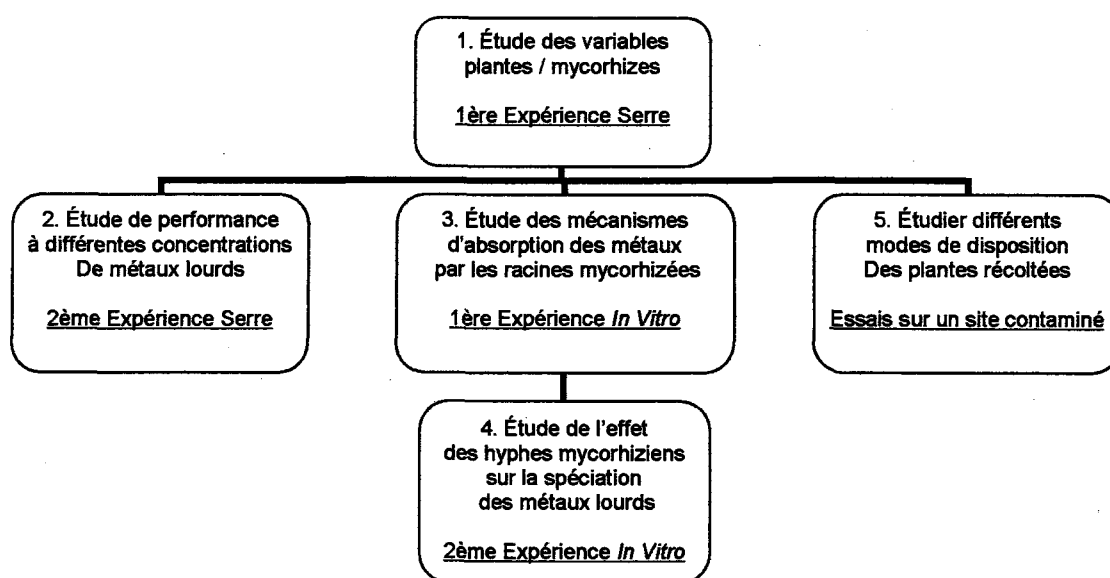


Figure 1.4 Organigramme représentant les différentes expériences (en serre, *in vitro*, et sur le terrain) menées en séquence ou en parallèle pour répondre aux objectifs de la thèse.

RÉFÉRENCES

- ALLEN, M.F., FIGUEROA, C., WEINBAUM, B.S., BARLOW, S.B., et ALLEN, E.B. 1996. Differential production of oxalate by mycorrhizal fungi in arid ecosystems. Biology and fertility of soils, vol. 22: 287-292.
- ANGLE, J.S., SPIRO, M.A., HEGGO, A.M., EL-KHERBAWY, M., et CHANEY, R.L. 1988. Soil microbial - legume interacts in heavy metal contaminated at Palmerton, PA. Trace Substances in the Environment Health, 22nd Conference, St-Louis, May 23-26, pp. 321-336.
- BAKER, A.J.M., BROOKS, R.R., PEASE, A.J., et MALAISSE, F. 1983. Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Silene* L. (*Caryophyllaceae*) from Zaïre. Plant and Soil, 73: 377-385.
- BAKER, A.; BROOKS, R.; and REEVES, R. 1988. Growing for gold... and copper... and zinc. New Scientist, 1603, 44-48.
- BAKER, A.J.M., REEVES, R.D., et HAJAR, A.S.M. 1994. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (Brassicaceae). The New Phytologist, vol. 127: 61-68.
- BECARD, G. et FORTIN, J.A. 1988. Early events of vesicular arbuscular mycorrhizae formation on Ri T-DNA transformed roots. New Phytologist 108: 211-218.
- BERKOWITZ, J.B. et FARKAS, A.L. 1992. Commercializing innovative cleanup techniques. Environmental Science & Technology, vol. 26: 247.
- BRADLEY, R., BURT, A.J., et READ, D.J. 1982. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. Nature, 292: 335-337.
- BLAYLOCK, M.J. 2000. Field demonstration of phytoremediation of lead-contaminated soils. In TERRY, N. et BANUELOS, G. (Eds.). Phytoremediation of contaminated soil and water. CRC Press LLC, New-York, 389 p.

- BROOKS, R.R. and ROBINSON, B.H. 1998. The potential use of hyperaccumulators and other plants for phytomining. In BROOKS, R.R. (Ed.) *Plants that hyperaccumulate heavy metals. Their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining*. CAB International, New York, 380 p.
- BURKE, S.C., ANGLE, J.S., CHANEY, R.L., et CUNNINGHAM, S.D. 2000. Arbuscular mycorrhizae effects on heavy metal uptake by corn. International Journal of Phytoremediation, vol. 2: 23-30.
- CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC (CEAEQ). 2004. Détermination des métaux : méthode par spectrométrie de masse à source ionisante au plasma d'argon. MA. 200 – Mét 1.1, Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec (MDDEP), Québec, 37 p. Site internet : <http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA200Met11.pdf>.
- CUI, M. et NOBEL, P.S. 1992. Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi. New Phytologist, vol. 122: 643-649.
- DEHN, B. et SCHÜEPP, H. 1989. Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. Agriculture, Ecosystems and Environment, vol. 29: 79-83.
- DUECK, T.A., VISSER, P., ERNST, W.H.O. et SCHAT, H. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizae decrease zinc-toxicity to grasses growing in zinc-polluted soil. Soil Biol. Biochem., vol. 18 : 331-337.
- DUSHENKOV, V., KUMAR, P.B.A.N., MOTTO, H., and RASKIN, I. 1995. Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. Environmental Science & Technology, 29, 1239-1245.
- ENSLEY, B.D. (2000). Rationale for use of phytoremediation. In RASKIN, I., and ENSLEY, B.D. (Eds). *Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Toronto, p. 3-11.
- ENTRY, J.A., WATRUD, L.S., et REEVES, M. 1999. Accumulation of ^{137}Cs and ^{90}Sr from contaminated soil by three grass species inoculated with mycorrhizal fungi. Environmental Pollution, vol. 104: 449-457.

- FLATHMAN, P.E. et LANZA, G.R. 1998. Phytoremediation: Current views on an emerging green technology. Journal of Soil Contamination, vol. 7: 415-432.
- GEORGE, E., HÄUSSLER, K.U., VETTERLEIN, K.U., GORGUS, E., et MARSCHNER, H. 1992. Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae*. Canadian Journal of Botany, vol. 70: 2130-2137.
- GILDON, A. et TINKER, P.B. 1983. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytologist, 95: 247-261.
- GIASSON, P. et JAOUICH, A. 1998. La phytorestauration des sols contaminés au Québec. Vecteur Environnement, vol. 31 : 40-53.
- GLASS, D.J. 1999. Current market trends in phytoremediation. International Journal of Phytoremediation, vol. 1: 1-8.
- GORDON, M., CHOE, N., DUFFY, J., GORDEN, E., HEILMAN, P., MUIZNEIEKS, I., NEWMAN, L., RUSZAJ, M., B.B. SHURTLEFF, STRAND, S., et WILMOTH, J. 1997. Phytoremediation of trichloroethylene with hybrid poplars. In KRUGER, E.L., ANDERSON, T.A., et COATS, J.R. Eds. Phytoremediation of soil and water contaminants. American Chemical Society, Washington, DC, p. 177-185.
- GOWEN ENVIRONMENTAL, 2003. Contaminated & hazardous waste site management course. Resource CD-Rom. Cours donné 16-20 juin 2003, Ottawa, Canada.
- HETRICK, B.A.D., WILSON, G.W.T. et FIGGE, D.A.H. 1994. The influence of mycorrhizal symbiosis and fertilizer amendments on establishment of vegetation in heavy metal mine spoil. Environmental Pollution, vol. 86 : 171-179.
- JASPER, D.A., ABBOTT, L.K., et ROBSON, A.D. 1989. Hyphae of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus maintain infectivity in dry soil, except when the soil is disturbed. New Phytologist, vol. 112: 101-107.
- JASTROW, J.D., MILLER, R.M., et LUSSENHOP, J. 1998. Contributions of interacting biological mechanisms to soil aggregate stabilization in restored prairie. Soil Biology and Biochemistry, vol. 30: 905-916.

- KILLHAM, K., et FIRESTONE, M.K. 1983. Vesicular arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acidic and heavy metal depositions. Plant and Soil, vol. 72: 39-48.
- KUMAR, P.B.A.N., DUSHENKOV, V., MOTTO, H., et RASKIN, I. 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. Environmental science & technology, vol. 29: 1232-1238.
- LAMBERT, D.H. et WEIDENSAUL, T.C. 1991. Element uptake by mycorrhizal soybean from sewage-sludge-treated soil. Soil Science Society of America Journal, vol. 55: 393-398.
- MCINTYRE, T. 2003. Phytorem© – Phytoremediation reference database. Environnement Canada. Division des applications environnementales de la biotechnologie, Hull, Canada. CD-ROM.
- MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT DU QUÉBEC (MENV). 2001. Bilan sur les terrains contaminés. Site internet: <http://www.mddep.gouv.qc.ca/sol/terrains/bilan-2001/index.htm>.
- MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, DE L'ENVIRONNEMENT ET DES PARCS (MDDEP). 2003. Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains. Gouvernement du Québec, Québec. Site internet: <http://www.mddep.gouv.qc.ca/communiques/2003/c030226-reg-terrains.pdf>.
- MOHAMMAD, M.J., PAN, W.L., et KENNEDY, A.C. 1995. Wheat responses to vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal inoculation of soils from eroded toposequence. Soil Science Society of America Journal, vol. 59: 1086-1090.
- NADIAN, H., SMITH, S.E., ALSTON, A.M., et MURRAY, R.S. 1997. Effects of soil compaction on plant growth, phosphorus uptake and morphological characteristics of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of *Trifolium subterraneum*. New Phytologist, vol. 135: 303-311.
- SALIDO, A.L.; HASTY, K.L.; LIM, J.-M.; BUTCHER, D.J. 2003. Phytoremediation of arsenic and lead in contaminated soil using Chinese brake ferns (*Pteris vittata*) and Indian mustard (*Brassica juncea*). International Journal of Phytoremediation, 5, 89-103.

SCHNOOR, J.L. 1997. Phytoremediation. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center (GWRTAC), Pittsburgh, PA, Technology Evaluation Report, E Series: TE-98-01. 37 p.

SMITH, M.R., CHARVAT, I., et JACOBSON, R.L. 1998. Arbuscular mycorrhizae promote establishment of prairie species in a tallgrass prairie restoration. Canadian journal of botany, vol. 76: 1947-1954.

SWEATT, M.R. et DAVIS, F.T.Jr. 1984. Mycorrhizae, water relations, growth, and nutrient uptake of geranium grown under moderately high phosphorus regimes. Journal America Society Horticulture Science, vol. 109: 210-213.

THOMAS, R.S., FRANSON, R.L., et BETHLENFALVAY, G.J. 1993. Separation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and root effects on soil aggregation. Soil Science Society of America journal. vol. 57: 77-81.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). 1994. The superfund innovative technology evaluation program. Technology profiles. United States, Washington, DC, 7^e édition, 495p.

VIERHEILIG, H., COUGHLAND, A.P., WYSS, U., et PICHE, Y. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. Appl Environ Microbiol 64: 5004-5007.

WEISSENHORN, I., LEYVAL, C., BELGY, G. et BERTHELIN, J. 1995. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. Mycorrhiza, vol. 5 :245-251.

CHAPITRE 1

MYCORRHIZOREMEDIATION OF HEAVY METALS (AS, CD, SE, ZN) CONTAMINATED SOIL BY AM FUNGI, *GLOMUS* AND *GIGASPORA* SPP., AND GRASSES AND CLOVER MIX – A GLASSHOUSE STUDY

PHILIPPE GIASSON, ALFRED JAOUICH, et PIERRE CAYER
Département des Sciences de la Terre et de l'Atmosphère, Université du
Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec,
Canada, H3P 3P8.

SERGE GAGNÉ et PETER MOUTOGLIS
Premier Tech Biotechnologies, 1, av. Premier, Rivière-du-Loup, Québec,
Canada, G5R 6C1.

et

LUC MASSICOTTE
SNC Lavalin Environnement, 455, Boul. René-Lévesque Ouest, Montréal,
Québec, Canada, H2Z 1Z3.

(Article soumis à Mycorrhiza, Août 2005)

RÉSUMÉ

Deux expériences en serre ont été menées pour évaluer l'impact de champignons endomycorhiziens sur l'extraction de différents métaux lourds (As, Cd, Pb, Se, et Zn) dans un substrat de tourbe de sphaignes par un mélange de graminées et légumineuses composées de *Festuca rubra*, *Festuca eliator*, *Agropyron repens* et *Trifolium repens*. Quatre différents champignons endomycorhiziens ont été analysés : *Glomus intraradices*, *G. mossae*, *G. etunicatum*, et *Gigaspora gigantea*. Des variations interspécifiques existent entre les champignons endomycorhiziens en rapport à la translocation des métaux à la plante. L'extraction des métaux lourds par les plantes colonisées par le *G. intraradices* est généralement plus élevée que dans celles non-colonisées, selon la concentration du métal dans le sol et selon qu'il réagit avec les autres métaux. Toutefois, l'extraction des métaux par les graminées colonisées atteint un plateau après une période d'environ deux mois.

Mots clés: Sols contaminés, Métaux lourds, Arsenic, Cadmium, Plomb, Sélénium, Zinc, Phytorestauration, Champignons mycorhiziens à arbuscules.

ABSTRACT

Two greenhouse experiments were conducted to evaluate the impact of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the extraction of different heavy metals (As, Cd, Pb, Se and Zn) in an organic soil by a grass mix composed of *Festuca rubra*, *Festuca eliator*, *Agropyron repens* and *Trifolium repens*. Four different AMF were investigated: *Glomus intraradices*, *G. mosseae*, *G. etunicatum*, and *Gigaspora gigantea*. There is interspecific variation between AMF regarding translocation of metals to plants. Heavy metal extraction by *G. intraradices* colonized plants is generally higher than non-mycorrhizal plants, depending on the heavy metal concentration in soil and whether it interacts with other metals in soil. However, metal extraction by AMF colonized grass reaches a plateau after approximately a two month period showing no further phytoaccumulation.

Key words: Contaminated soils, Heavy metals, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, Zinc, Phytoremediation, Arbuscular Mycorrhizal Fungi.

INTRODUCTION

Phytoremediation has already proven its potential in numerous applications around the world (Baker *et al*, 1988; Kumar *et al*, 1995; Giasson and Jaouich, 1998; Salido *et al*, 2003). The relatively low potential cost of phytoremediation allows the treatment of many sites that cannot be addressed with currently available methods. In addition, it has aesthetic advantages and long term applicability; it preserves the topsoil and reduces the amount of hazardous materials generated during cleanup (Schnoor, 1997; Ensley, 2000). However, research in this field must be pursued to enhance biomass and heavy metals accumulation in plants. In this way, mycorrhizal fungi may be very helpful. These microscopic fungi naturally occurring in soil form a symbiosis with plant roots and produce a highly elaborated mycelium network (hyphae) in soil. These fungal associations increase the plant contact area with soil and were shown to enhance root absorption area up to 47-fold (Smith and Read, 1997). By colonizing the roots, the fungus raises plant growth by making soil elements more accessible (George *et al*, 1992; Nadian *et al*, 1997) and by increasing water absorption (Sweat and Davis, 1984, Cui and Nobel, 1992). Accordingly, mycorrhizal colonisation improves vegetation establishment and survival particularly in adverse conditions such as low fertility and arid soils (Jasper *et al*, 1989, Allen *et al*, 1996, Smith *et al*, 1998). Mycorrhizal fungi enhance soil structure by glomalin secretion and aggregate formation (Thomas *et al*, 1993; Jastrow *et al*, 1998). Mycorrhization also augments plant resistance towards heavy metal phytotoxicity (Dueck *et al*, 1986; Weissenhorn *et al*, 1995). Mycorrhizal fungi may play

an important role in vegetation establishment for phytoremediation purposes of contaminated sites who are generally poor in nutrients and with a highly altered soil structure.

Since the early eighties, many researchers showed that mycorrhizal colonisation can have an impact on heavy metal assimilation by plants (Bradley *et al*, 1981, Gildon and Tinker, 1983). Dehn and Schüepp (1989) found that mycorrhizal colonization enhances heavy metal accumulation in lettuce roots but not in shoots. However, Angle *et al* (1988), Lambert and Weidensaul (1991), and Jamal *et al* (2002) showed that mycorrhizae enhance heavy metal accumulation in legume shoots like soybean, alfalfa and lentil. Killham and Firestone (1983), Hetrick *et al* (1994), Mohammad *et al* (1995), Burke *et al* (2000), and Bi *et al* (2003) found similar results with grasses. In the case of cesium (Cs) and strontium (Sr), Entry *et al* (1999) showed that mycorrhizal plants produce higher biomass and higher Cs and Sr content in plant tissues than non-mycorrhizal plants. Recently, Turnau and Mesjasz-Przybylowicz (2003) found that *Berkheya coddii*, a hyperaccumulator of the Asteraceae family, can be cultivated with well-developed mycorrhization including arbuscule formation that increase not only the shoot biomass of the plant but also strongly increase the Ni content of shoots. Ni shoot content of *B. coddii* colonized with *Glomus intraradices* was 1.3% of dry weight, while in nonmycorrhizal plants it was below 0.5% (Turnau and Mesjasz-Przybylowicz, 2003).

The main objectives of this research is to verify if there is variation between AMF species in order to identify the best AM fungus for metal extraction by plants, and secondly to determine the effect of this best AM fungus at two concentrations (high and extreme) of heavy metal (As, Cd, Pb, Se, and Zn) in soil.

MATERIALS AND METHODS

Glasshouse experiment 1

The treatments included four, commonly found, well adapted in North American soils, AMF species cultured by Premier Tech Ltd. (Qc, Canada): *Glomus intraradices* (Ottawa, Canada, DAOM 107198), *Glomus mosseae* (Isolated from Quebec soils by Premier Tech Ltd), *Glomus etunicatum* (Isolated from Quebec soils by Premier Tech Ltd), and *Gigaspora gigantea* (David D. Douds-Jr, USDA, Pennsylvania) and a control without mycorrhiza. *Glomus* spp and *Gigaspora* spp are AMF species identified in metal rich soils (Chaudry *et al.*, 1999). A grass mix of common *Festuca rubra*, and *F. eliator* (70%), *Agropyron repens* (25%), and *Trifolium repens* (5%) was used. This vegetation mix is used in land reclamation in Eastern Canada to revegetate mine tailings. *Festuca* species like *F. rubra* are considered characteristic species on metalliferous soils and can accumulate excessive amounts of metals (Smith and Bradshaw, 1979; Pichtel and Salt, 1998). Also, this grass mix can be harvested several times per year because the branched stubble can renew itself constantly (Marie-Victorin, 1964). Plants were grown in 500mL

pots containing partly mineralised organic soil (ProMix BXTM, Premier Tech Ltd., Qc, Canada) characterised by 80% Canadian peat sphagnum and 20% hortical grade perlite and vermiculite, dolomitic and calcitic limestone, and a wetting agent. This soil is void of AMF and similar to topsoil conditions where heavy metals normally accumulate and where vegetation growth is optimized. Use of contaminated soil would have been more difficult because of heterogeneous heavy metal concentrations and possible indigenous AMF presence. For inoculation, soil was mixed with AMF in a ratio of 9:1. Each 500mL pot contained an average of 150 spore propagules that were homogeneously mixed with soil and the inoculum potential was uniform at approximately 2 spores per gram in all pots. Zinc was added to soil as ZnN_2O_6 , Se as selenate ($\text{NaSeO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) and As as arsenate ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). These salts are the most available metal forms to plants and were chosen to get optimal phytoextraction in all treatments. The metal concentrations were: 1500 $\mu\text{g/g}$ Zn, 10 $\mu\text{g/g}$ Se, and 50 $\mu\text{g/g}$ As. They are based on the maximum acceptable level in a soil for industrial use (MDDEP, 2003). Metals were added 28 days after seeding so that plants and mycorrhizae are well established prior to metal addition in pots. Five replicates of each treatment were randomly distributed. The plants were harvested after 90 days.

Glasshouse was programmed for optimal growing conditions (photoperiod: 16 hours, temperature: 19-25°C, humidity: 35-55%, watering everyday if necessary). Promix BXTM includes fertilizer starter: 66 mg/L N-NO₃, 5 mg/L P-PO₄, 60 mg/L K, and pH

was 5.3. There was no subsequent fertilization during the experiment to reproduce field conditions.

Glasshouse experiment 2

The AMF specie tested was *G. intraradices* compared to a control without mycorrhiza. This specie was chosen among the three others because of higher metal translocation observed in the first experiment. Plant species composition was the same as in experiment 1: *Festuca rubra* and *F. eliator* (70%), *Agropyron repens* (25%), and *Trifolium repens* (5%). Ratio of soil/inoculum was as in experiment 1. Zn, Se and As were added in the same form as in experiment 1. Furthermore, Cd and Pb were tested as CdN_2O_6 and PbN_2O_6 , respectively. Two concentrations were tested for each metal as follows: Zn (1500 and 10,000 $\mu\text{g/g}$), Cd (20 and 200 $\mu\text{g/g}$), Pb (1000 and 10,000 $\mu\text{g/g}$), Se (10 and 100 $\mu\text{g/g}$), and As (50 and 500 $\mu\text{g/g}$). Metals were tested individually and all together. Contrary to experiment 1, metals were added prior to seeding to reproduce field conditions. Five replicates were randomly distributed. There were two sampling periods (day 44 and day 80) and the final harvest was on day 113. Glasshouse conditions were the same as described for experiment 1.

Plant and soil analysis

Samples were dried and digested in 75mL Kimax tubes as follows: 0.5g of grinded plant material was put in 10mL HNO_3 and heated on a hot plate at 95°C for 180 minutes until no plant biomass was left. One gram soil material was sieved (2mm) and put in 10mL

HNO₃ and 5mL HCl (*aqua regia*) and heated on a hot plate at 95°C for 180 minutes and then filtered (CEAEQ, 2004). Samples were then analysed for Zn, Cd and Pb with flame atomic absorption spectrometry (AAS), and for As and Se with graphite furnace AAS. Plant roots were also cleared with KOH and stained with ink and vinegar (Vierheilig *et al*, 1998). The percentage of root length colonised by AMF and the relative arbuscular richness (*i.e.* percentage of arbuscule observations among the number of AMF in roots) were calculated using the grid-line intersect method (Giovannetti and Mosse, 1980).

Statistics

Q Test has been performed to retain or discard questionable laboratory data (Shugar *et al*, 1996). Standard error was calculated and analysis of variance was done for all data with a $p \leq 0.05$. Duncan Multiple Range Test ($p \leq 0.05$) was also used.

RESULTS AND DISCUSSION

In the first glasshouse experiment mycorrhizal root colonization varied from 30 to 70% in all four AMF tested and was negligible in the control non-mycorrhizal plants.

According to Duncan multiple range test shown in Table 2.1, inoculation produced the most efficient results for arsenic and zinc accumulation compared to the other mycorrhizae treatments. As and Zn accumulation was respectively 14 and 7 fold higher

in presence of *G. intraradices* as compared to the uninoculated control. As ($1713\mu\text{g/g}$) and Zn ($2316\mu\text{g/g}$) concentrations in shoots inoculated with *G. intraradices* are respectively 34 and 1.5 fold higher than soil concentrations.

Plants inoculated with *G. mossae*, *G. etunicatum* and *Gigaspora gigantea* showed the highest selenium extraction. All four mycorrhizae treatments were significantly higher than the control uncolonized (Table 2.1). Accumulation with *G. mosseae* was 2.5 fold the amount in non mycorrhizal control. Shoot selenium ($662\mu\text{g/g}$) concentration in *G. mosseae* colonized grass mix is more than 60 fold the soil Se ($10\mu\text{g/g}$) concentration.

In the second glasshouse experiment root colonization by *G. intraradices* varied from 46% in As treatment up to 67% in Cd treatment for all heavy metal except for Zn at $10,000\mu\text{g/g}$ in soil where root colonization was 23% (Figure 2.1). Relative arbuscular richness varied from 38% in Se treatments up to 84% in the mix metals treatments.

Cadmium

When soil Cd concentration is $20\mu\text{g/g}$, there is no difference between treatments, but at $200\mu\text{g/g}$, there is a significant difference ($p=0.0466$) between *G. intraradices* colonized grass mix ($11\mu\text{g/g}$) and the control grass mix non-colonized ($8\mu\text{g/g}$) at day 80 (Figure 2.2(B)). There is higher plant Cd concentration on day 44 because of lower biomass. After day 80, a plateau is reached by the colonized plants showing no further plant accumulation. This suggests that harvest may be done after a 2 months period. When

looking at metal mass extracted by plants (Figure 2.2(E)), there is a significant difference ($p=0.02$) between the colonized grass mix (147 μg of Cd) and the control (76 μg of Cd) because colonized plants tend to yield more biomass. For all three treatments, Cd mass extraction (Figures 2.2(D), (E), (F)) by colonized vegetation is greater after 80 days even if not always apparent in plant Cd content.

Cadmium interactions with other metals

When Cd is mixed with other heavy metals (Zn, As, Se, and Pb), mycorrhizal grasses show significantly higher ($p=0.0048$) Cd concentration (5.3 $\mu\text{g/g}$) than the non-mycorrhizal grass mix (3.2 $\mu\text{g/g}$) on the first sampling day (Figure 2.2(C)). After day 44, there is no significant difference ($p=0.376$) between the two treatments. When in presence of all five metals, Cd content in uncolonized vegetation is reduced as compared to single-element treatment but is not affected in *G. intraradices* colonized vegetation (Figures 2.2 (A), (C)).

Zinc

Although not always significant, Zn plant content is higher in mycorrhizal treatments than in the control. However, the mycorrhizal grass mix has a greater ($p=0.037$) Zn mass extracted (2485 μg) than the control (1438 μg) on day 80 (Figure 2.3(D)) because of higher plant biomass. As related by other studies (Shetty *et al*, 1994), AMF alters the pattern of Zn translocation from root to shoot in *Festuca arrundinaceae*. Zinc hyphal uptake and translocation are known to be similar to P transport (Cooper and Tinker,

1978; Weissenhorn *et al*, 1995). Vacuoles of mycorrhizal hyphae and arbuscules contain polyphosphate. Frequent degeneration of fungal arbuscules in the root allowed Zn content to be transferred directly into the host cell (Tinker and Gildon, 1983). In the present study, arbuscule relative richness in Zn treatment was the highest (75%). Well developed mycorrhization including arbuscule formation can increase metal content in shoots (Turnau and Mesjasz-Przybylowicz, 2003). Zn can then be accumulated in leaves as a citrate complex in the vacuole (Salt *et al*, 1999).

After 80 days, the control plants catch up with the colonized ones which show no further Zn extraction. On day 113, there is a slight decrease in Zn mass extracted in mycorrhizal plants caused by high zinc levels exposure and observed by chlorosis and necrosis on leaves.

Zinc interactions with other metals

When Zn is mixed with other heavy metals (Cd, As, Se and Pb), there is a difference ($p=0.05$) in Zn concentration in colonized plants ($236\mu\text{g/g}$) versus the uncolonized plants ($166\mu\text{g/g}$) on day 44 (Figure 2.3(C)). After that day, the difference in Zn concentration is no longer significant between colonized and non-colonized plants. Also when in presence of all five metals, Zn content in uncolonized vegetation is reduced on day 44 as compared to single-element treatment but is unaffected in *G. intraradices* colonized vegetation (Figures 2.3 (A), (C)).

Arsenic

On day 80, there is a significantly higher ($p=0.0462$) As concentration in mycorrhized plants ($74\mu\text{g/g}$) compared to the control plants ($52\mu\text{g/g}$) (Figure 2.4(C)). This difference becomes even more important after 113 days when As concentration in colonized plants reaches $143\mu\text{g/g}$ versus $84\mu\text{g/g}$ in control plants. A possible explanation of mechanism by which it gets into tissues is that uptake of phosphate by AMF is central to mycorrhizal symbioses and AMF have an active phosphate transporter (Meharg *et al*, 1994). Arsenate (As(V)) is chemically similar to phosphate and can enter cells via arsenite (As(III)) translocating ATP'ase (Jun *et al*, 2002).

However, As concentration in *G. intraradices* colonized grass mix ($143\mu\text{g/g}$) is ten fold lower in the second experiment compared to the first ($1700\mu\text{g/g}$), probably because in this first experiment, seeds were sown four weeks prior to heavy metal addition on the ProMix BXTM, so plant establishment was better. There is also a significant difference ($p=0.038$) in As mass extracted by colonized grass mix ($206\mu\text{g}$) on day 80 versus the uncolonized grass mix ($148\mu\text{g}$) (Figure 2.4(D)). There was a slight drop, although not significant, in As mass extracted by plant from day 80 to day 113. This loss of As could be caused by phytovolatilization. A number of the elements in subgroups II, V and VI of the Periodic Table, like mercury, arsenic and selenium, form volatile hydrides or methyl derivatives that can be liberated to the atmosphere, probably as a result of the action of bacteria or soil fungi (Brooks, 1998).

Arsenic interactions with other metals

When in presence of all five metals, the phytoaccumulation of As is reduced as compared to single-As element treatment (Figures 2.4 (A), (C)). This could be caused by antagonist reactions between Se and As and possible antagonism between Zn and As in plants (Kabata-Pendias, 2001).

Selenium

There is no significant difference between the AMF treatment and the control without AMF. In both treatments, Se content in plant is 10 fold the soil content on day 44 (Figures 2.5(A), (B)).

By looking at all three Se treatments (Figures 2.5(A), (B), (C)), there is a drop in plant Se content from day 44 to day 80. As showed by Zayed *et al* (2000), Se may be lost in part by phytovolatilization in the dimethyl diselenide ($\text{CH}_3\text{SeSeCH}_3$) form.

Selenium interactions with other metals

In contrast with all other heavy metal phytoaccumulations, when Se is mixed with Cd, Zn, As, and Pb, *G. intraradices* colonized grass mix shows higher Se concentration than in single Se-treatment (Figures 2.5(A), (C)). On day 44, Se concentration in AMF colonized plants ($440\mu\text{g/g}$) is 40 fold higher than the soil Se content ($10\mu\text{g/g}$) (Figure 2.5(C)), a phenomenon referred to as hyperaccumulation (Brooks, 1998).

Lead

Phytoextraction was low for both colonized and non-colonized treatments with no significant differences between the two (results not presented). Lead has low mobility in soil (less than Cd and Zn) (Orlowska *et al*, 2002) and Pb seems to form organic complexes with organic matter and is rendered unavailable for plants. Also, plants have mechanisms to precipitate Pb in the rhizosphere as the highly insoluble sulphate (PbSO_4) (Brooks, 1995).

To summarize glasshouse experiments, there is interspecific variation between AMF regarding translocation of metals to plants. Zn, Cd, As, and Se extraction by *Glomus intraradices* colonized plants is generally higher than non-mycorrhizal plants, depending on the metal concentration in soil and whether this heavy metal interacts with other metals in soil. As observed by Lasat (2002), effect of AMF associations on metal root uptake appears to be metal and plant specific. Greater root length densities and presumably more hyphae enable plants to explore a larger soil volume and thus increasing access to cations (metals) not available to nonmycorrhizal plants (Mohammad *et al*, 1995).

For all three treatments, Cd mass extraction (Figures 2(D), (E), (F)) by colonized vegetation is greater after 80 days even if not always apparent in plant Cd content. Zinc content and mass extracted is generally higher in mycorrhizal vegetation because the pattern of translocation from root to shoot is altered by AMF. Zn uptake and

translocation are similar to P transport. At high arsenic levels in soils, As content and mass extracted is superior in colonized plants probably because of an active arsenite-translocating ATP'ase in AMF. When in interaction with other metals in soil, selenium is extracted more readily by AMF colonized plants. But with time, Se in plants is lost in part by volatilization of the dimethyl diselenide form.

Finally, for all four metals (Cd, Zn, As and Se), there is a positive linear correlation between metal in plant tissues and metal content in soils. When soil metal content is increased by 10, metal in plant tissues is also increased by 10 for all treatments.

Moreover, metal extraction reaches a plateau after a period of roughly two months showing no further phytoaccumulation and sometimes slightly diminishes probably because of either phytovolatilization (As and Se) or necrosis in plants (Zn) caused by high heavy metal levels. This observation suggests that probably *G. intraradices* colonized perennial grasses could perhaps be harvested after approximately a two month period allowing 2 to 3 harvests per year in Canadian latitudes. Accordingly, phytoremediation can be accelerated 2 to 3 fold.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank the “Fonds d’Action Québécois pour le Développement Durable” (FAQDD) and the “Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies” for their financial support. Also, we acknowledge University of Quebec at Montreal assistants Nicolas Sbarrato and Simon Dutil-Paquette for helping in sample preparation and analysis.

REFERENCES

- Allen, M.F., Figueroa, C., Weinbaum, B.S, Barlow, S.B., and Allen, E.B. 1996. Differential production of oxalate by mycorrhizal fungi in arid ecosystems. *Biol. Fert. Soils* **22**, 287-292.
- Angle, J.S., Spiro, M.A., Heggo, A.M., El-Kherbawy, M., and Chaney, R.L. 1988. Soil microbial - legume interacts in heavy metal contaminated at Palmerton, PA. In: *Trace Substances in the Environment Health*, 22nd Conference, St-Louis, May 23-26, p. 321-336.
- Baker, A.; Brooks, R.; and Reeves, R. 1988. Growing for gold... and copper... and zinc. *New Sci.* **1603**, 44-48.
- Bi, Y.L., Li, X.L. Christie, P., Hu, Z.Q., and Wong, M.H. 2003. Growth and nutrient uptake of arbuscular mycorrhizal maize in different depths of soil overlying coal fly ash. *Chemosphere* **50**, 863-869.
- Bradley, R., Burt, A.J., and Read, D.J. 1982. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. *Nature* **292**, 335-337.
- Brooks, R.R. 1998. *Plants that hyperaccumulate heavy metals*. CAB International, New York, NY, 380 p.
- Brooks, R.R. 1995. *Biological systems in mineral exploration and processing*. Ellis Horwood, Toronto, p. 49.

- Burke, S.C., Angle, J.S., Chaney, R.L., and Cunningham, S.D. 2000. Arbuscular mycorrhizae effects on heavy metal uptake by corn. *Int. J. Phytoremed.* **2**, 23-30.
- Centre d'Expertise En Analyse Environnementale Du Québec (CEAEQ). 2004. *Détermination des métaux : méthode par spectrométrie de masse à source ionisante au plasma d'argon*. MA. 200 – Mét 1.1, Ministère de l'Environnement du Québec, 37 p.
- Chaudry, T.M., Hill, L., Khan, A.G., and Keuk, C. 1999. Colonization of iron and zinc-contaminated dumped filter cake waste by microbes, plants and associated mycorrhizae. p. 275-283. In: *Remediation and management of degraded land*. (Wong, M.H. and Baker, A.J.M., Eds.) CRC Press, Boca Raton, Fl.
- Cooper, K.M. and Tinker, P.B. 1978. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc, and sulphur. *New Phytol.* **81**: 43-52.
- Cui, M. and Nobel, P.S. 1992. Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi. *New Phytol.* **122**, 643-649.
- Dehn, B. and Schüepp, H. 1989. Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. *Agr. Ecosyst. Environ.* **29**, 79-83.
- Dueck, T.A., Visser, P., Ernst, W.H.O. and Schat, H. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizae decrease zinc-toxicity to grasses growing in zinc-polluted soil. *Soil Biol. Biochem.* **18**, 331-337.
- Ensley, B.D. 2000. Rationale for use of phytoremediation. In: *Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment*. (Raskin, I. and Ensley, B.D.) John Wiley & Sons, Toronto, p. 3-12.

- Entry, J.A., Watrud, L.S., and Reeves, M. 1999. Accumulation of ^{137}Cs and ^{90}Sr from contaminated soil by three grass species inoculated with mycorrhizal fungi. *Environ. Pollut.* **104**, 449-457.
- George, E., Häussler, K.U., Vetterlein, K.U., Gorgus, E., and Marschner, H. 1992. Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae*. *Can. J. Botany* **70**, 2130-2137.
- Gildon, A. and Tinker, P.B. 1983. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.* **95**, 247-261.
- Giasson, P. and Jaouich, A. 1998. La phytorestauration des sols contaminés au Québec. *Vecteur Environnement* **31**, 40-53.
- Giovannetti, M. and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring VAM infection in roots. *New Phytologist* **84**, 489-500.
- Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T. and Figge, D.A.H. 1994. The influence of mycorrhizal symbiosis and fertilizer amendments on establishment of vegetation in heavy metal mine spoil. *Environ. Pollut.* **86**, 171-179.
- Jamal, A., Ayud, N., Usman, M., and Khan, A.G. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance zinc and nickel uptake from contaminated soil by soyabean and lentil. *Int. J. Phytoremed.* **4**, 205-221.
- Jasper, D.A., Abbott, L.K., and Robson, A.D. 1989. Hyphae of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus maintain infectivity in dry soil, except when the soil is disturbed. *New Phytol.* **112**, 101-107.

- Jastrow, J.D., Miller, R.M., and Lussenhop, J. 1998. Contributions of interacting biological mechanisms to soil aggregate stabilization in restored prairie. *Soil Biol. Biochem.* **30**, 905-916.
- Jun, J, Abubaker, J. Rehrer, C. Pfeffer, P.E., Shachar-Hill, Y. and Lammers, P.J. 2002. Expression in an arbuscular mycorrhizal fungus of genes putatively involved in metabolism, transport, the cytoskeleton and the cell cycle. *Plant Soil* **244**, 141-148.
- Kabata-Pendias, A. 2001. *Trace elements in soils and plants*. CRC Press, Third Edition, New York, 413 p.
- Killham, K., and Firestone, M.K. 1983. Vesicular arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acidic and heavy metal depositions. *Plant Soil* **72**, 39-48.
- Kumar, P.B.A.N., Dushenkov, V., Motto, H., and Raskin, I. 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol.* **29**, 1232-1238.
- Lambert, D.H. and Weidensaul, T.C. 1991. Element uptake by mycorrhizal soybean from sewage-sludge-treated soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **55**, 393-398.
- Lasat, M.M. 2002. Phytoextraction of toxic metals : A review of biological mechanisms. *J. Environ. Qual.* **31**, 109-120.
- Marie-Victorin, F. 1964. *Flore laurentienne*. Les Presses de l'Université de Montréal, Montreal, Canada, 925p.
- Meharg, A.A., Bailey, J., Breadmore, K., and Macnair, M.R. 1994. Biomass allocation, phosphorus nutrition and vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in clones of Yorkshire Fog, *Holcus lanatus* L. (Poaceae) that differ in their phosphate uptake kinetics and tolerance to arsenate. *Plant Soil* **160**, 11-20.

- Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs (MDDEP). 2003. Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains. Quebec Government Bylaw, Quebec. Web site: <http://www.mddep.gouv.qc.ca/communiques/2003/c030226-reg-terrains.pdf>.
- Mohammad, M.J., Pan, W.L., and Kennedy, A.C. 1995. Wheat responses to vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal inoculation of soils from eroded toposequence. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **59**, 1086-1090.
- Nadian, H., Smith, S.E., Alston, A.M., And Murray, R.S. 1997. Effects of soil compaction on plant growth, phosphorus uptake and morphological characteristics of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of *Trifolium subterraneum*. *New Phytol.* **135**, 303-311.
- Orlowska, E., Zubek, Sz, Jurkiewicz, A. Szarek-Lukaszewska, G. And Turnau, K. 2002. Influence of restoration on arbuscular mycorrhiza of *Biscutella laevigata* L. (*Brassicaceae*) and *Plantago lanceolata* L. (*Plantaginaceae*) from calamine spoil mounds. *Mycorrhiza* **12**, 153-160.
- Pichtel, J. and Salt, C.A. 1998. Vegetative growth and trace metal accumulation on metalliferous wastes. *J. Environ. Qual.* **27**, 618-624.
- Salido, A.L., Hasty, K.L., Lim, J.-M., and Butcher, D.J. 2003. Phytoremediation of arsenic and lead in contaminated soil using Chinese brake ferns (*Pteris vittata*) and Indian mustard (*Brassica juncea*). *Int. J. Phytoremed.* **5**, 89-103.

- Salt, D.E., Prince, R.C., Baker, A.J.M., Raskin, I, and Pickering I.J. 1999. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* **33**, 713-717.
- Shetty, K.G., Hetrick, B.A.D., Figge, D.A.H., and Schwab, A.P. 1994. Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy metal contaminated mine spoil. *Environ. Pollut.* **86**, 181-188.
- Shugar, G.J., Ballinger, J.T. and Dawkins, L.M. 1996. *Chemical technicians' ready reference handbook*. McGraw-Hill, New York, 4th edition, 972p.
- Smith, M.R., Charvat, I., and Jacobson, R.L. 1998. Arbuscular mycorrhizae promote establishment of prairie species in a tallgrass prairie restoration. *Can. J. Botany* **76**, 1947-1954.
- Smith, R.A.H., and Bradshaw, A.D. 1979. The use of metal tolerant plant populations for the reclamation of metalliferous wastes. *J. Appl. Ecol.* **16**, 595-612.
- Smith, S.E., and Read, D.J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd edition, Academic Press, San Diego, CA. 605 p.
- Schnoor, J.L. 1997. *Phytoremediation*. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center, Technology Evaluation Report TE-98-01, Pittsburgh, PA, 37 p.
- Sweatt, M.R. and Davis, F.T.Jr. 1984. Mycorrhizae, water relations, growth, and nutrient uptake of geranium grown under moderately high phosphorus regimes. *J. Am. Soc. Horti. Sci.* **109**, 210-213.

Thomas, R.S., Franson, R.L., and Bethlenfalvay, G.J. 1993. Separation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and root effects on soil aggregation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **57**, 77-81.

Tinker, P.B. and Gildon, A. 1983. Mycorrhizal fungi and ion uptake. In: *Metals and micronutrients: Uptake and utilization by plants*. (Robb, D.A. and Pierpoint, W.S., Eds.). Academic Press, Toronto, p. 21-32.

Turnau, K. and Mesjasz-Przybylowicz, J. 2003. Arbuscular mycorrhiza of *Berkheya coddii* and other Ni-hyperaccumulating members of Asteraceae from ultramafic soils in South Africa. *Mycorrhiza* **13**, 185-190.

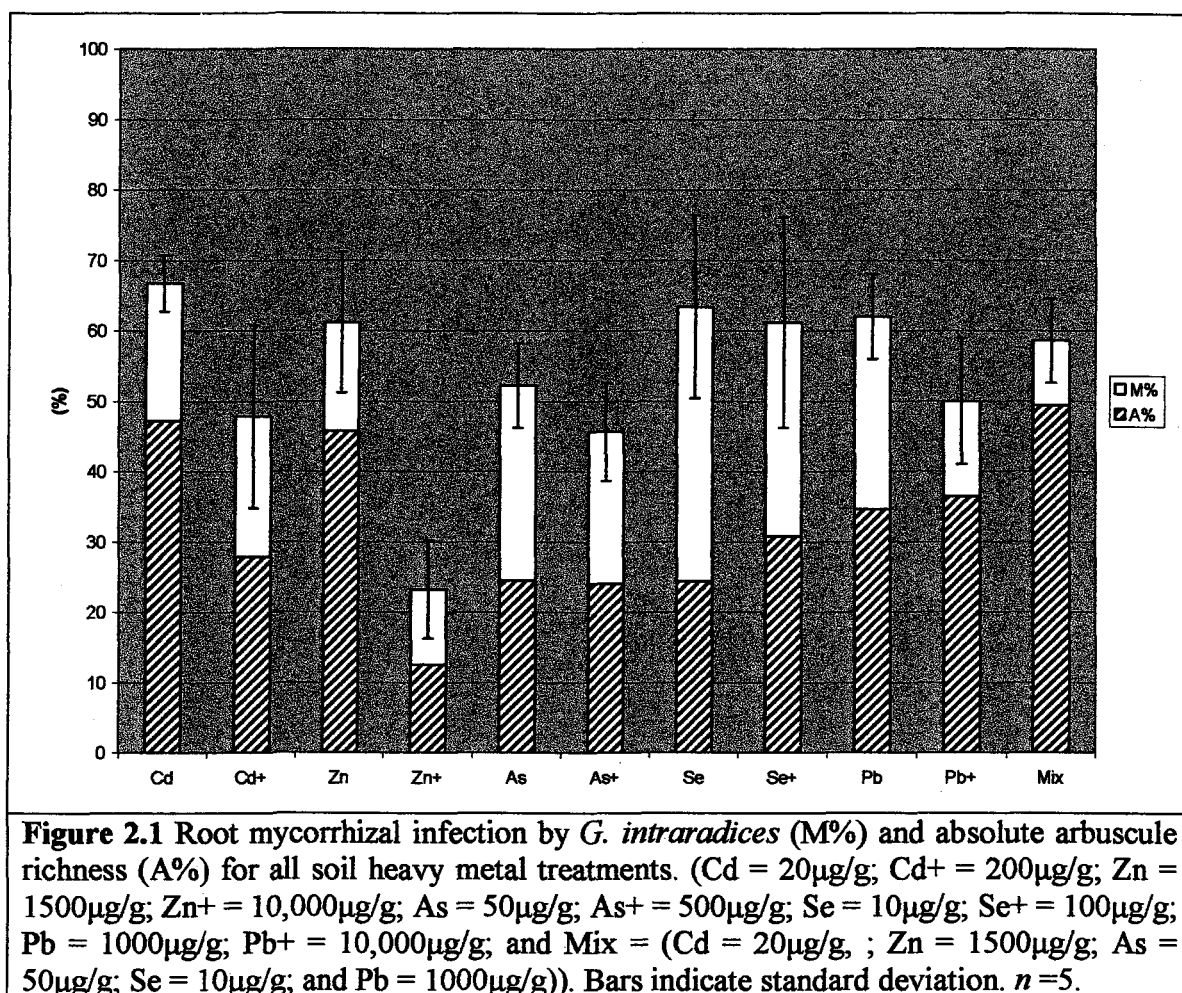
Vierheilig, H., Coughland, A.P., Wyss, U., and Piché, Y. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Appl. Environ. Microb.* **64**, 5004-5007.

Weissenhorn, I., Leyval, C., Belgy, G. and Berthelin, J. 1995. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. *Mycorrhiza* **5**, 245-251.

Zayed, A., Pilon-Smits, E., Desouza, M., Lin, Z-Q, and Terry, N. 2000. Remediation of selenium-polluted soils and waters by phytovolatilization. In: *Phytoremediation of contaminated soil and water*. (Terry, N. and Banuelos, G., Eds.). CRC Press LLC, New York, p. 61-83.

Table 2.1 Glasshouse experiment 1. Effect of different arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal extraction by a grass mix of *Festuca rubra*, *F. eliator*, *Agropyron repens*, and *Trifolium repens*. Soil heavy metal content: 50µg/g As, 1500µg/g Zn and 10µg/g Se. Values followed by the same letter are not significantly different according to Duncan Multiple Range Test ($p \leq 0.05$). $n = 5$.

Mycorrhizal inoculation	Arsenic (µg/g)	Zinc (µg/g)	Selenium (µg/g)
<i>Glomus intraradices</i>	1713 a	2316 a	454 b
<i>G.mossae</i>	255 c, b	1640 a	662 a
<i>G. etunicatum</i>	464 b	423 b	522 a, b
<i>Gigaspora gigantea</i>	310 b	612 b	553 a, b
Control	122 c	330 b	266 c



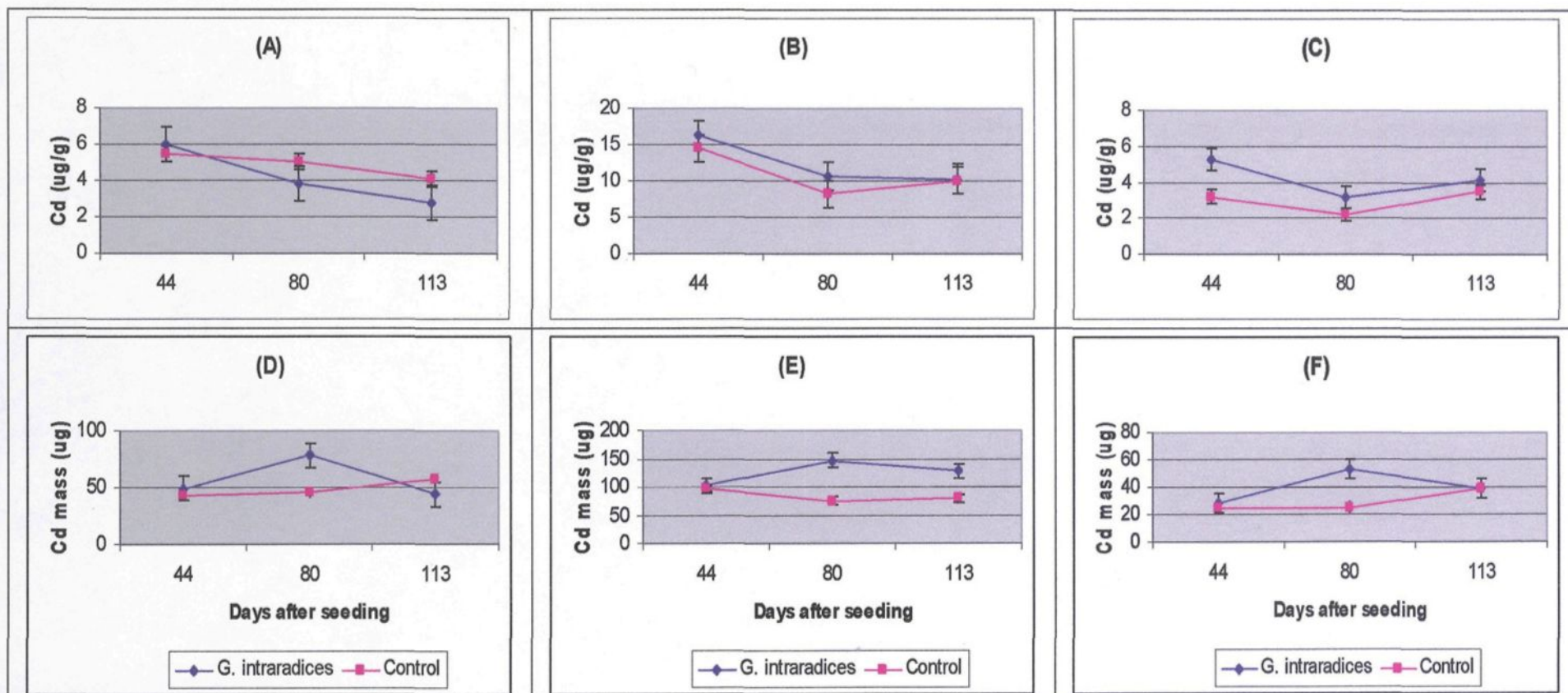


Figure 2.2 Effect of mycorrhizal inoculation on cadmium (Cd) extraction by plants (Mix of *Festuca rubra*, *F. eliator*, *Agropyron repens* and *Trifolium repens*) in a ProMix BXTM soil contaminated with (A, D) 20 μ g/g Cd; (B, E) 200 μ g/g Cd; (C, F) 20 μ g/g Cd in combination with Zn (1500 μ g/g), Pb (1000 μ g/g), Se (10 μ g/g) and As (50 μ g/g). A to C represent Cd content in plants while D to F represent Cd mass extracted from soil. Bars indicate standard error. $n = 5$.

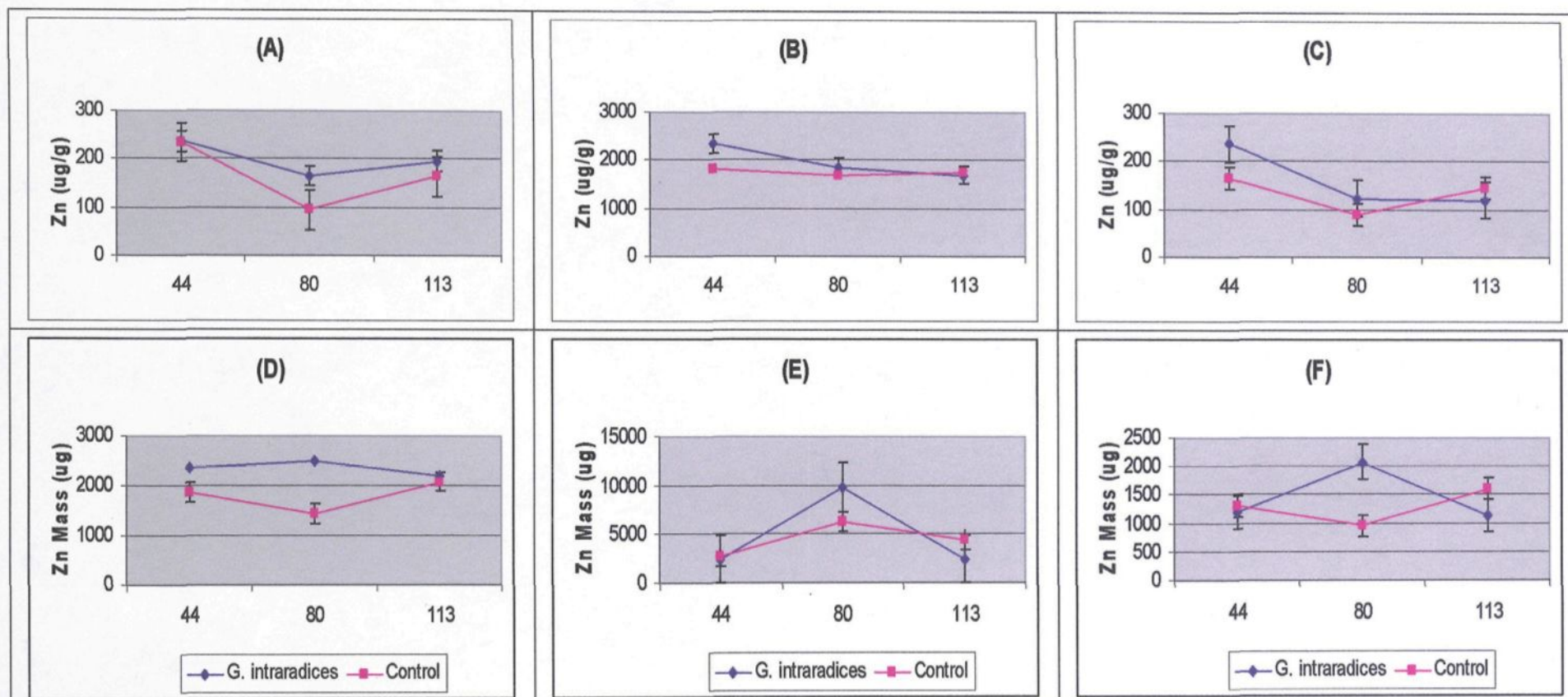


Figure 2.3 Effect of mycorrhizal inoculation on zinc (Zn) extraction by plants (Mix of *Festuca rubra*, *F. eliator*, *Agropyron repens* and *Trifolium repens*) in a ProMix BXTM soil contaminated with (A, D) 1500 μ g/g Zn; (B, E) 10,000 μ g/g Zn; (C, F) 1500 μ g/g Zn in combination with Cd (20 μ g/g), Pb (1000 μ g/g), Se (10 μ g/g) and As (50 μ g/g). A to C represent Zn content in plants while D to F represent Zn mass extracted from soil. Bars indicate standard error. $n = 5$.

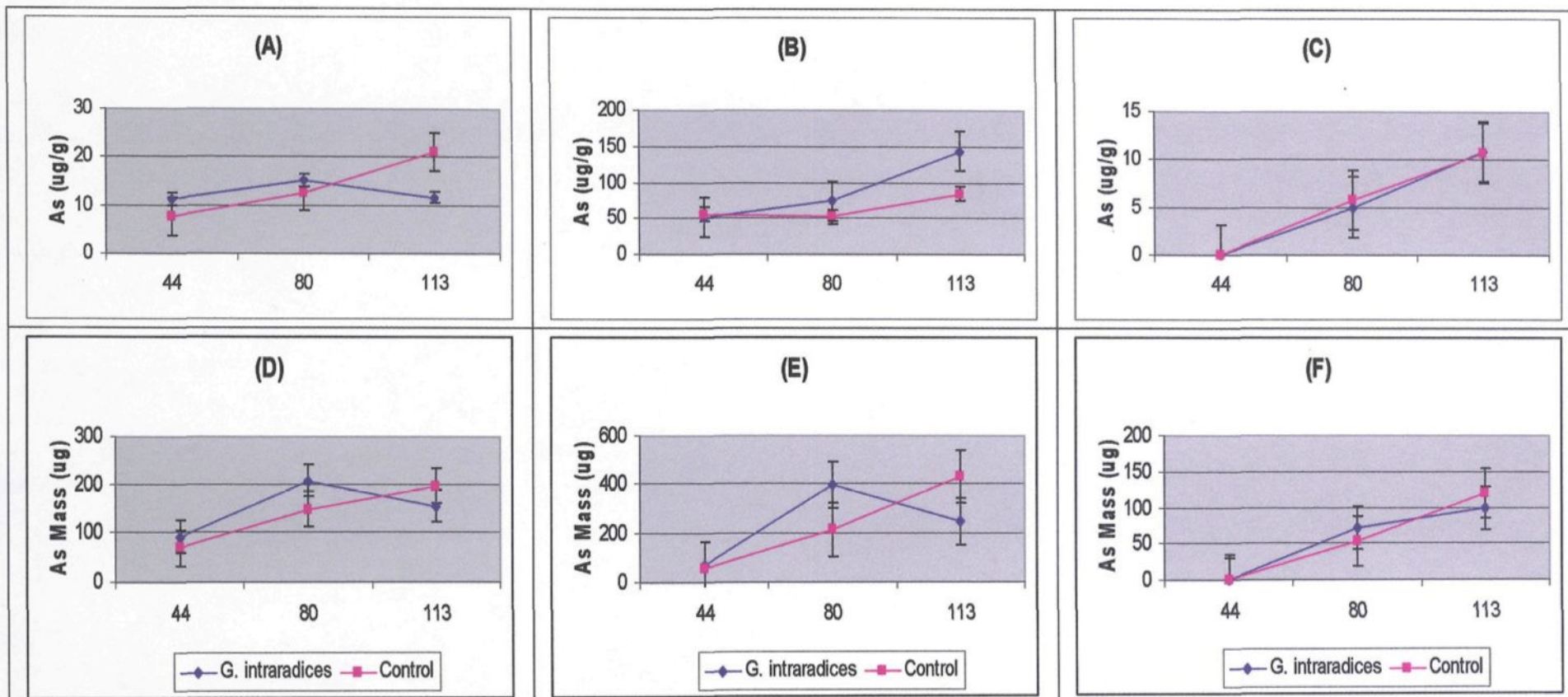


Figure 2.4 Effect of mycorrhizal inoculation on arsenic (As) extraction by plants (Mix of *Festuca rubra*, *F. eliator*, *Agropyron repens* and *Trifolium repens*) in a ProMix BXTM soil contaminated with (A, D) 50 μ g/g As; (B, E) 500 μ g/g As; (C, F) 50 μ g/g As in combination with Cd (20 μ g/g), Zn (1500 μ g/g), Pb (1000 μ g/g), and Se (10 μ g/g). A to C represent Cd content in plants while D to F represent Cd mass extracted from soil. Bars indicate standard error. $n = 5$.

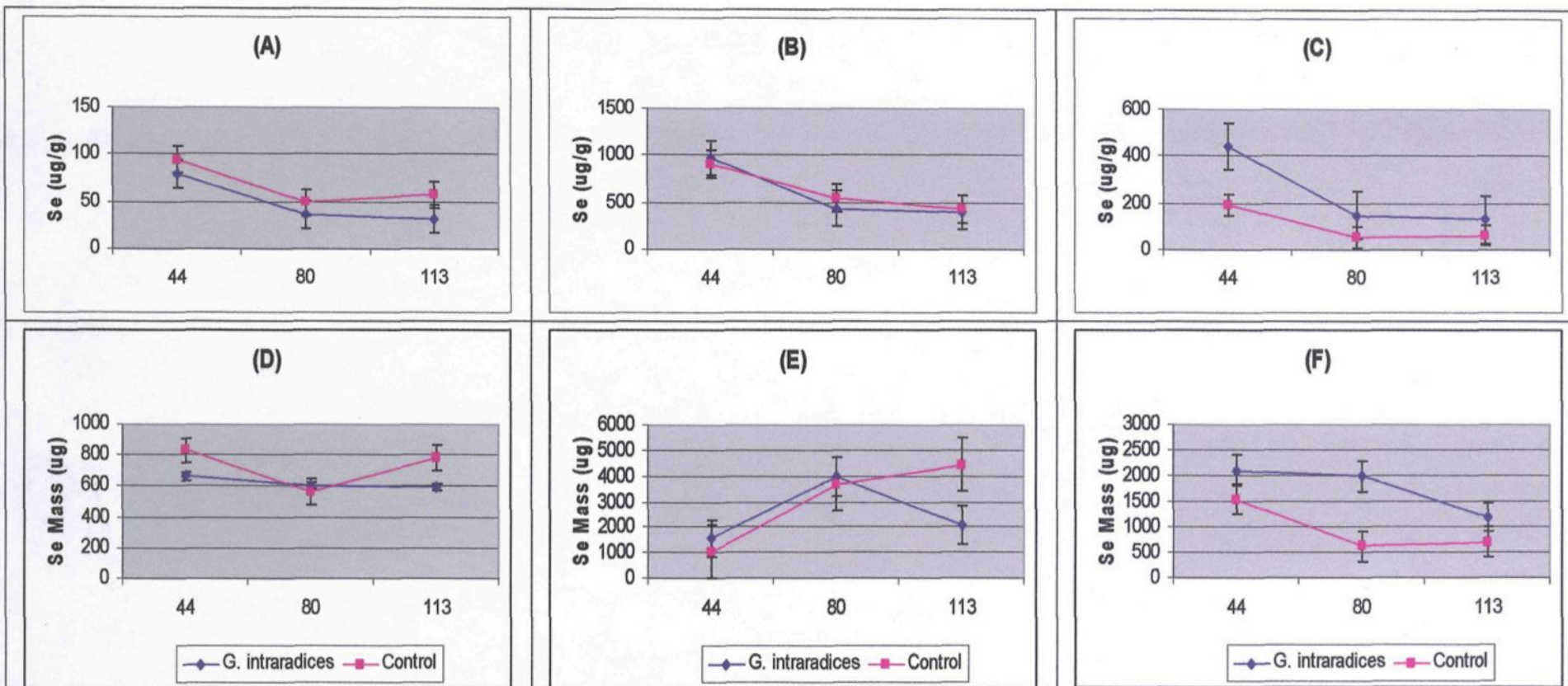


Figure 2.5 Effect of mycorrhizal inoculation on selenium (Se) extraction by plants (Mix of *Festuca rubra*, *F. eliator*, *Agropyron repens* and *Trifolium repens*) in a ProMix BXTM soil contaminated with (A, D) 10 $\mu\text{g/g}$ Se; (B, E) 100 $\mu\text{g/g}$ Se; (C, F) 10 $\mu\text{g/g}$ Se in combination with Cd (20 $\mu\text{g/g}$), Zn (1500 $\mu\text{g/g}$), Pb (1000 $\mu\text{g/g}$) and As (50 $\mu\text{g/g}$). A to C represent Se content in plants while D to F represent Se mass extracted from soil. Bars indicate standard error. $n = 5$.

CHAPITRE 2

PHYTOREMEDIATION OF ZINC AND CADMIUM: A STUDY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL HYPHAE

PHILIPPE GIASSEN et ALFRED JAOUICH

Département des Sciences de la Terre et de l'Atmosphère, Université du
Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec,
Canada, H3P 3P8.

et

SERGE GAGNÉ et PETER MOUTOGLIS

Premier Tech Biotechnologies, 1 av. Premier, Rivière-du-Loup, Québec,
Canada, G5R 6C1.

(Article publié dans Remediation en 2005, vol. 15 (4) : 113-122)

RÉSUMÉ

Les champignons endomycorhiziens sont des organismes microscopiques qui forment des relations symbiotiques avec les racines des plantes produisant un réseau d'hyphes mycéliens très élaboré dans le sol. Des expériences *in vitro* utilisant des plats de pétri à double compartiment ont servi à déterminer si les hyphes mycorhiziens extraradiculaires sont directement impliqués dans la séquestration et l'assimilation de métaux essentiels (zinc) et non-essentiels (cadmium) par les racines lorsque ceux-ci sont présents dans des concentrations toxiques. Cette recherche est la suite d'une étude initiale présentée dans le numéro de printemps 2005 de Remediation Journal focussant sur le rôle des champignons endomycorhiziens dans la spéciation des métaux lourds. Cet article présente une vue plus élargie. Les résultats montrent que les métaux lourds sont séquestrés et transférés aux racines des plantes via les hyphes. Le facteur d'accumulation racine/milieu gélosé atteint 5:1 et 18:1 pour le Zn et le Cd, respectivement. La phytorestauration des sols contaminés aux métaux lourds peut être améliorée par l'inoculation mycorhizienne.

Mots clés: Sols contaminés, Métaux lourds, Cadmium, Zinc, Phytorestauration, Champignons mycorhiziens à arbuscules, *Glomus intraradices*.

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are microscopic fungi naturally occurring in soil and form a symbiosis with plant roots producing a highly elaborated hyphal mycelium network in soil. *In vitro* lab experiments were conducted to determine whether extraradical mycorrhizal hyphae are directly involved in sequestration and uptake of essential zinc and non-essential cadmium by plant roots under toxic concentrations. The research is a continuation of an initial study presented in the Spring 2005 issue of Remediation that focused on the specific role of AMF in the speciation of heavy metals. Thus, this article presents a more expanded view. Results show that zinc and cadmium heavy metals are sequestered and translocated to plant roots via extraradical AMF hyphae. Root/growth media accumulation factors reached 5:1 and 18:1 for zinc and cadmium respectively. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils can be enhanced by mycorrhizal inoculation.

Key words: Contaminated soils, Heavy metals, Cadmium, Zinc, Phytoremediation, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, *Glomus intraradices*.

INTRODUCTION

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are microscopic fungi naturally occurring in soil and form a symbiosis with plant roots and produce a highly elaborated hyphal mycelium network in soil. More than 80 percent of all plant species can be colonized by mycorrhizae (Smith and Read, 1997). These fungal associations increase the plant contact area with soil and were shown to enhance root absorption area up to 47-fold (Smith and Read, 1997). AMF are low cost inocula and may be used in phytoremediation to enhance plant biomass and heavy metals accumulation in plants.

Since the early eighties, many researchers showed that mycorrhizal colonisation can have an impact on heavy metal assimilation by plants (Bradley *et al*, 1981, Gildon and Tinker, 1983). Dehn and Schüepp (1989) found that mycorrhizal colonization enhances heavy metal accumulation in lettuce roots but not in shoots. However, Angle *et al* (1988), Lambert and Weidensaul (1991), and Jamal *et al* (2002) showed that mycorrhizae enhance heavy metal accumulation in legume shoots like soybean, alfalfa and lentil. Killham and Firestone (1983), Hetrick *et al* (1994), Mohammad *et al* (1995), Burke *et al* (2000), and Bi *et al* (2003) found similar results with grasses.

In nature, some plants hyperaccumulate heavy metals. Hyperaccumulators are defined as plants that can accumulate and concentrate heavy metals in their tissues way above soil concentrations. As classified by McIntyre (2003), plants are called hyperaccumulators of zinc and cadmium if they contain at minimal level respectively 1000 µg/g and 10 µg/g. For example, *Viola calaminaria* from the *Violaceae* family and *Thlaspi calaminare* from the *Brassicaceae* family have been shown to grow over calamine deposits in Aachen, Germany and contain over one percent (dry weight) zinc in their tissues (Brooks, 1998). It has also been shown that *Thlaspi caerulescens* from the *Brassicaceae* family can also hyperaccumulate both zinc and cadmium (Brooks, 1998). Furthermore, *Berkheya coddii*,

a hyperaccumulator of the *Asteraceae* family, grows over serpentine soils in South Africa. Studies have shown that *B. coddii* can be cultivated with well-developed mycorrhization that increase not only the shoot biomass of the plant but also strongly increase the Ni content of shoots (Turnau and Mesjasz-Przybylowicz, 2003). Ni shoot content of *B. coddii* colonized with *Glomus intraradices* was 1.3 percent dry weight, while in nonmycorrhizal plants it was below 0.5 percent (Turnau and Mesjasz-Przybylowicz, 2003). These species are respectively called calamine and serpentine flora.

Heavy metal complexes in hyperaccumulator plants are mainly associated with carboxylic acids like citric, malic and malonic acids. These organic acids are implicated in the storage of heavy metals in leaf vacuoles. Moreover, amino acids like cysteine, histidine glutamic acids, and glycine form heavy metal complexes in hyperaccumulators (Homer *et al.* 1997). These complexes are more stable than those with carboxylic acids as they are mostly involved in heavy metal transport through xylem.

Although hyperaccumulator plants are widely used in phytoextraction they are generally of low biomass, inconvenient for phytoremediation. On the other hand, arbuscular mycorrhizae fungi (AMF), especially *Glomus intraradices*, colonized *Festuca* and *Agropyron* species, are high biomass grasses and have shown higher heavy metal (zinc, cadmium, arsenic and selenium) content than non-colonized laboratory controls (Giasson *et al.* 2004). Like for hyperaccumulators, fungi can synthesize cysteine-rich metal binding proteins called metallothioneins (Gadd and White, 1989). The results of this study suggest that AMF might be directly involved in heavy metal hyperaccumulation in plants used in phytoremediation.

The study is a continuation of an initial study presented in the Spring 2005 issue of Remediation (See Chapitre 3). The objective of the initial study was to determine if mycorrhizal fungi have a role in the speciation of heavy metals (bio-chemical

weathering). To expand on this research, the objective of the present study is to determine if and in what way mycorrhizal fungi are responsible for heavy metal accumulation in plants and if mycorrhizal fungi can cause a plant to become a hyperaccumulator of heavy metals.

In vitro compartmented systems were used to study the mechanisms that occur in heavy metal (essential and non-essential) absorption by AMF colonized plant roots. These *in vitro* systems have a root compartment (proximal side) and an extra-radical hyphae compartment (distal side) that make it possible to study (1) the involvement of hyphae alone in the extraction of heavy metals in the distal side and (2) the translocation of the heavy metals to the roots in the proximal side. More precisely, this experiment determines whether mycorrhizal hyphae are directly involved in sequestration and uptake of essential zinc and non-essential cadmium by plant roots.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted *in vitro*. Transformed carrot (*Daucus carota* L.) roots (Bécard and Fortin, 1988) colonized by *Glomus intraradices* cultured by Premier Tech Ltd (Qc, Canada) were inoculated according to Premier Tech specific procedures and were grown in phytigel using double compartment Petri dishes (St-Arnaud *et al*, 1996). Colonized roots were deposited on the gel nutrient media (M media) containing macro and micro-elements (Bécard and Fortin, 1988) on the proximal side (Exhibit 1). Essential (zinc) and non-essential (cadmium) heavy metals were added separately in the M media on the distal side of the Petri dish. Zinc was added as zinc sulphate (ZnSO_4) in order to obtain two different concentrations (100 and 500 micrograms/gram ($\mu\text{g/g}$) Zn) in the Petri dish. Cadmium was added from a standard solution to obtain two different concentrations (5 and 20 $\mu\text{g/g}$ cadmium) in the M media.

Petri dishes were kept in an incubator at 26°C for 20 weeks. Roots were restricted to the root compartment by keeping the Petri dish plates standing vertically with the root compartment on the bottom, as carrot roots are positively geotropic while *G. intraradices* spores are negatively geotropic and grow against force of gravity. A control without heavy metals was included in the experiment. Ten replicates were conducted for all treatments.

After 20 weeks, roots were extracted from the phytagel with pliers, rinsed with distilled water and dried. They were then digested in 75 mL Kimax tubes in 10mL nitric acid (HNO_3) and heated on a hot plate at 95°C for 180 minutes until no plant biomass was left prior to flame atomic absorption spectroscopy analysis (CEAEQ, 2004). The plant roots were cleared with potassium hydroxide (KOH) and stained with ink and vinegar (Vierheilig *et al*, 1998). The percentage of root length colonised by AMF was calculated using the grid-line intersect method (Giovannetti and Mosse, 1980). Spore counting was performed using a wet sieving method. Metal adsorption to spore propagules was quantified by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Analysis of variance (Anova) was performed on all data.

RESULTS AND DISCUSSION

Even without force, AM hyphae passed from the proximal to the distal side of the Petri dish into the M media containing low and high concentrations of zinc and cadmium. Hyphal network was well developed and sporulation was high in the low heavy metal level side (100 µg/g zinc and 5 µg/g cadmium) (Exhibit2). More than 16,000 spores per half Petri plates were counted for the low cadmium and zinc treatments.

At high heavy metal level (500 µg/g zinc and 20 µg/g cadmium), hyphal network was less developed (taking spiral shapes) and sporulation was weaker (Exhibit 3). Spore

population was approximately 1,500 per half Petri plates for the 20 $\mu\text{g/g}$ cadmium treatment and 1,300 for the 500 $\mu\text{g/g}$ zinc treatment.

The results are revealing. Essential cation (Zn) and non-essential (Cd) translocation from substrate (phytagel) to plant occurred through mycorrhizae hyphae, even at high (toxic) heavy metal concentrations (Exhibit 4 and 5). This is in accordance with Chen *et al* (2003) who found that zinc is taken up and transferred to host plant via extraradical hyphae. Root/growth media accumulation factors reached 5:1 and 18:1 for zinc and cadmium, respectively. With over 90 $\mu\text{g/g}$ cadmium and 550 $\mu\text{g/g}$ zinc found in the roots, *G. intraradices* influences caused the carrot to become a hyperaccumulator of cadmium and an accumulator of zinc.

In the present experiment, zinc adsorption to spore propagules was weak, approximately 9.6 μg of zinc per gram of spore in the 500 $\mu\text{g/g}$ zinc treatment. Zinc was transferred to plant host by AMF hyphae and arbuscules. Zinc hyphal uptake and translocation are known to be similar to phosphorus (P) transport (Cooper and Tinker, 1978; Weissenhorn *et al*, 1995). Vacuoles of AMF hyphae and arbuscules contain phosphorus as polyphosphate. Moreover, arbuscules are involved in zinc transfer to plant by providing a considerable increase in surface area of contact between fungus and plant (Smith & Read, 1997). Frequent degeneration of fungal arbuscules in the root allowed the zinc content to be transferred directly into the host cell (Tinker and Gildon, 1983). Turnau and Mesjasz-Przybylowicz (2003) found that well developed mycorrhization, including arbuscule formation, could increase metal content in plant shoots.

Cadmium, like other non - essential metals, is generally of low abundance in the biosphere and should therefore not compete with specific transport systems for essential metals (Gadd and White, 1989). However, as a result of human activities, non-essential metals are concentrated in certain areas to very high levels, for example industrial and mining soils. Toxic and non-essential metals such as cadmium, generally bind more

strongly to ligands compared to essential metals. So cadmium displaces essential metals from their normal sites, though it also exerts toxic effects by binding to other sites (Hughes and Poole, 1989).

Furthermore, cadmium (0.97 Å) has a similar ionic radius to calcium (0.99 Å) so there is a possible metal-for-metal substitution in the predominantly oxygen-containing ligand sites preferred by calcium. Also, because of cadmium position in the Periodic Table (Group IIB), it bears a chemical resemblance to zinc. Competition between cadmium, calcium and zinc ions for adsorption sites on AM hyphae seemed to favour cadmium over calcium and zinc (Joner et al, 2000).

In microbes, cadmium competes with both manganese and zinc transport systems. Cadmium appears to enter via the manganese transport system and is rapidly diffused from resistant cells via antiporter genes exchanging cadmium for hydrogen and cation-translocating ATPase (Silver *et al*, 1989). Cadmium will also bind at sites normally occupied by zinc containing either a soft ligand like sulphur (for example cysteine or metallothionein), or hard ligands like nitrogen (for example histidine) and oxygen (Rayner and Sadler, 1989).

A common metal-induced response in fungi is the intracellular synthesis of cysteine-rich metal binding proteins called metallothioneins (MT), which have functions in metal detoxification and also in the storage and regulation of intracellular metal ion concentrations (Gadd and White, 1989). There are also small peptides called phytochelatins in microbes and plants that bind metals such as cadmium via cysteinyl residues. These peptides protect plant cells from metal poisoning (Baker *et al*, 1988).

Joner and Leyval (1997) suggested that sequestration of cadmium in fungal structures could be responsible for the retention of cadmium in the roots. It is, however, likely that the extent of this retention mechanism is restricted due to the relatively small biomass of

the fungi. In the present experiment, cadmium adsorption to spore propagules in the distal side of the Petri plate was below the 0.5 µg/g detection limit of the chromatograph (HPLC). Once saturation does occur in the fungi, an increased translocation to shoots might occur (Colpaert, 1998). Hughes and Poole (1989) found that some heavy metals appear to enter plant cells directly, possibly through a lesion in the cell membrane resulting from the strong binding of the cation.

However, in this experiment, heavy metal accumulation by colonized carrot roots seemed to reach a plateau: 550 µg/g for zinc and 90 µg/g for cadmium (Exhibits 4 and 5), independently of the initial growth media heavy metal concentrations. This could be explained by heavy metal saturation in vegetation after a two month exposure period (Giasson *et al*, 2005). Furthermore, Rayner and Sadler (1989) showed that when cadmium levels are increased, adaptation results in an increase in the growth rate and reduction in the extent of cadmium accumulated from the medium.

In conclusion, essential (zinc) and non-essential (cadmium) heavy metals are sequestered and translocated to plant roots via extraradical AM hyphae. Root/growth media accumulation factor reached 5:1 and 18:1 for zinc and cadmium, respectively. Zinc is an essential element for plants and its hyphal uptake and translocation are known to be similar to phosphorus transport. As for cadmium, this non-essential metal enters hyphae via the manganese and zinc transport systems and accumulates in high concentrations in plants. These conclusions are worth considering in phytoremediation of heavy metal contaminated soils enhanced by mycorrhizal inoculation.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank the “Fonds d’Action Québécois pour le Développement Durable” (FAQDD) and the “Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies” for their financial support. Also we wish to thank University of Quebec at Montreal assistants Pierre Cayer, Nicolas Sbarrato and Simon Dutil-Paquette for helping with sample preparation and analysis.

REFERENCES

- Angle, J.S., Spiro, M.A., Heggo, A.M., El-Kherbawy, M., & Chaney, R.L. (1988). Soil microbial - legume interacts in heavy metal contaminated at Palmerton, PA. In: Trace Substances in the Environment Health, 22nd Conference, St-Louis, May 23-26, p. 321-336.
- Baker, A., Brooks, R., and Reeves, R. 1988. Growing for gold... and copper... and zinc. *New Scientist*, 1603: 44-48.
- Bécard, G. and Fortin, J.A. (1988). Early events of vesicular arbuscular mycorrhizae formation on Ri T-DNA transformed roots. *New Phytologist*, 108, 211-218.
- Bi, Y.L., Li, X.L. Christie, P., Hu, Z.Q., & Wong, M.H. (2003). Growth and nutrient uptake of arbuscular mycorrhizal maize in different depths of soil overlying coal fly ash. *Chemosphere*, 50, 863-869.
- Bradley, R., Burt, A.J., & Read, D.J. (1982). Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. *Nature*, 292, 335-337.
- Brooks, R.R. (Ed.) (1998). Plants that hyperaccumulate heavy metals. Their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining. CAB International, New York.
- Burke, S.C., Angle, J.S., Chaney, R.L., & Cunningham, S.D. (2000). Arbuscular mycorrhizae effects on heavy metal uptake by corn. *International Journal of Phytoremediation*, 2, 23-30.
- Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ). (2004). Détermination des métaux : méthode par spectrométrie de masse à source ionisante au plasma d'argon. MA. 200 – Mét 1.1, Ministère de l'Environnement du Québec. 37 p.
- Chen, B.D., Li, X.L., Tao, H.Q., Christie, P., and Wong, M.H. (2003). The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. *Chemosphere*, 50, 839-846.

- Colpaert, J.V. (1998). Biological interactions: The significance of root-microbial symbioses for phytorestoration of metal-contaminated soils. In Vangronsveld, J. and Cunningham, S.D. (Eds.). *Metal-contaminated soils: In situ inactivation and phytorestoration* (pp. 75-91). Springer-Verlag, New York.
- Cooper, K.M. and Tinker, P.B. (1978). Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc, and sulphur. *New Phytologist*, 81, 43-52.
- Dehn, B. & Schüepp, H. (1989). Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 29, 79-83.
- Gadd, G.M. and White, C. (1989). Heavy metal and radionuclide accumulation and toxicity in fungi and yeasts. In Poole, R.K. and Gadd, G.M. (Eds.), *Metal – microbe interactions* (pp. 19-38). Special Publications of the Society for General Microbiology, Volume 26, by IRL Press at Oxford University Press, New York, NY.
- Giasson, P.; Jaouich, A.; Gagné, S.; Massicotte, L.; Cayer, P. and Moutoglis, P. (2005). Mycorrhizoremediation of heavy metals (As, Cd, Se, Zn) contaminated soil by AM fungi, *Glomus* and *Gigaspora* spp., and grasses and clover mix – A glasshouse study. Manuscript submitted for publication.
- Gildon, A. & Tinker, P.B. (1983). Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 95, 247-261.
- Giovannetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring VAM infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489-500.
- Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T. & Figge, D.A.H. (1994). The influence of mycorrhizal symbiosis and fertilizer amendments on establishment of vegetation in heavy metal mine spoil. *Environmental Pollution*, 86, 171-179.
- Homer, F.A., Reeves, R.D., and Brooks, R.R. (1997). The possible involvement of aminoacids in nickel chelation in some nickel-accumulating plants. *Current Topics in phytochemistry*, 14, 31-33.

- Hughes, M.N and Poole, R.K. (1989). Metal mimicry and metal limitation in studies of metal – microbe interactions. In Poole, R.K. and Gadd, G.M. (Eds.), Metal – microbe interactions (pp. 1-17). Special Publications of the Society for General Microbiology, Volume 26, by IRL Press at Oxford University Press, New York, NY.
- Jamal, A., Ayud, N., Usman, M., & Khan, A.G. (2002). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance zinc and nickel uptake from contaminated soil by soyabean and lentil. *International Journal of Phytoremediation*, 4, 205-221.
- Joner, E.J., Briones, R. and Leyval, C. (2000). Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant and Soil*, 226, 227-234.
- Joner, E.J. and Leyval, C. (1997). Uptake of ¹⁰⁹Cd by roots and hyphae of a *Glomus mossae* / *Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytologist*, 135, 353-360.
- Killham, K., & Firestone, M.K. (1983). Vesicular arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acidic and heavy metal depositions. *Plant & Soil*, 72, 39-48.
- Lambert, D.H. & Weidensaul, T.C. (1991). Element uptake by mycorrhizal soybean from sewage-sludge-treated soil. *Soil Science Society of America Journal*, 55, 393-398.
- McIntyre, T. (2003). Phytorem© – Phytoremediation reference database. Environment Canada. Environmental Biotechnology Applications Division. Hull, Canada. CD-ROM.
- Mohammad, M.J., Pan, W.L., & Kennedy, A.C. (1995). Wheat responses to vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal inoculation of soils from eroded toposequence. *Soil Science Society of America Journal*, 59, 1086-1090.
- Rayner, M.H and Sadler, P.J. (1989). Cadmium accumulation and resistance mechanisms in bacteria. In Poole, R.K. and Gadd, G.M. (Eds.), Metal – microbe interactions (pp. 39-47). Special Publications of the Society for General Microbiology, Volume 26, by IRL Press at Oxford University Press, New York, NY.
- Silver, S.; Laddaga, R.A. and Misra, T.K. (1989). Plasmid-determined resistance to metal ions. In Poole, R.K. and Gadd, G.M. (Eds.), Metal – microbe interactions (pp. 49-63). Special Publications of the Society for General Microbiology, Volume 26, by IRL Press at Oxford University Press, New York, NY.

- Smith, S.E., and Read, D.J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd edition, Academic Press, San Diego, CA. 605 p.
- St-Arnaud, M., Hamel, C., Vimard, B., Caron, M., and Fortin, J.A. (1996). Enhanced hyphal growth and spore production of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in an *in vitro* system in the absence of host roots. *Mycological Research*, 100, 328-322.
- Tinker, P.B. and Gildon, A. (1983). Mycorrhizal fungi and ion uptake. In Robb, D.A. and Pierpoint, W.S. (Eds.), *Metals and micronutrients: Uptake and utilization by plants* (pp. 21-32). Academic Press, Toronto.
- Turnau, K. and Mesjasz-Przybylowicz, J. (2003). Arbuscular mycorrhiza of *Berkheya coddii* and other Ni-hyperaccumulating members of Asteraceae from ultramafic soils in South Africa. *Mycorrhiza*, 13, 185-190.
- Vierheilig, H., Coughland, A.P., Wyss, U., and Piché, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied Environmental Microbiology*, 64, 5004-5007.
- Weissenhorn, I., Leyval, C., Belgy, G. and Berthelin, J. (1995). Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. *Mycorrhiza*, 5, 245-251.



Figure 3.1 View of a compartmented Petri after 17 weeks. Modified *Glomus intraradices* colonized carrot (*Daucus carota* L.) roots were grown on the proximal side in M media. Because of negative geotropism, only hyphae were able to pass to the distal side containing either Zn²⁺ or Cd²⁺.

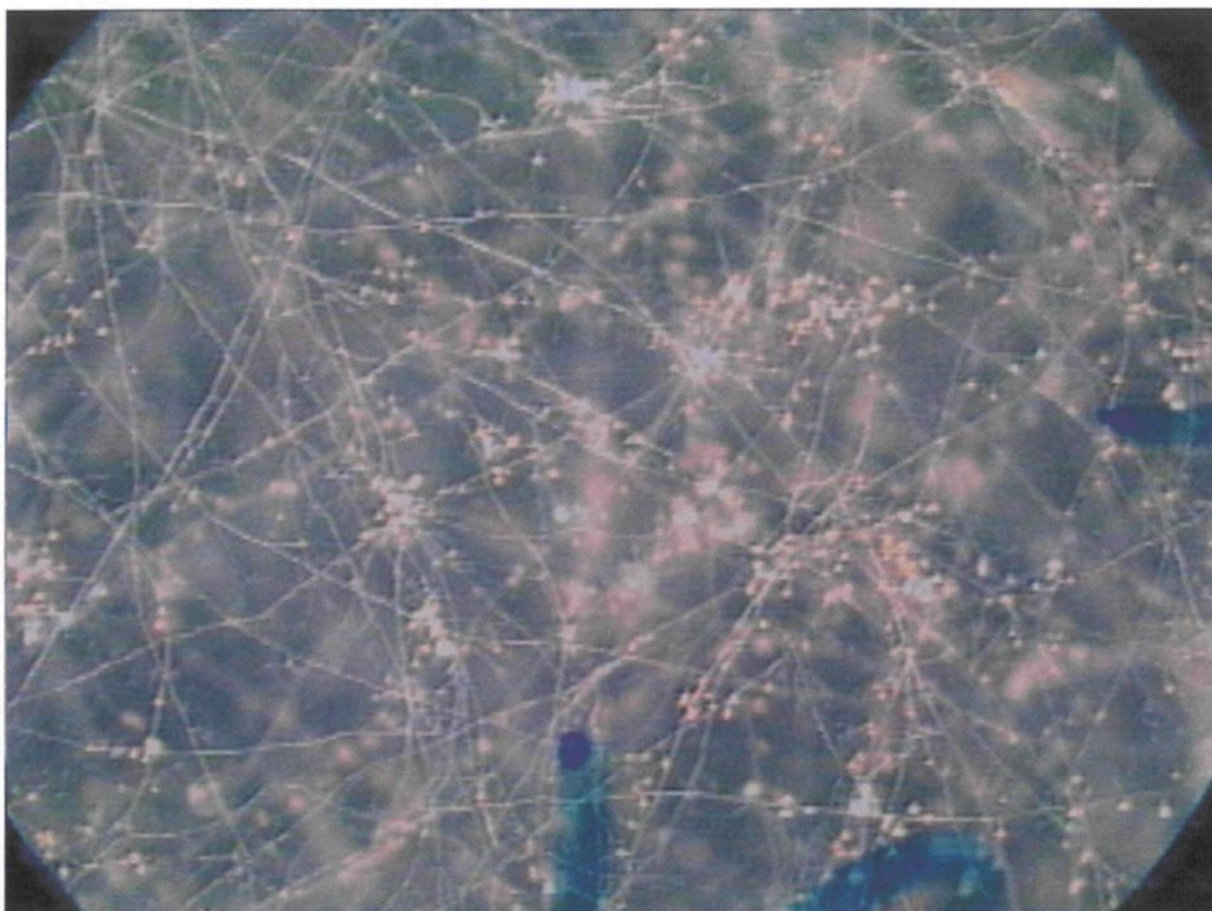


Figure 3.2 Well developed hyphal architecture and spores multiplication after 10 weeks (Petri distal side, 25X) (M media: Cd 5 $\mu\text{g/g}$). More than 16,000 spores per half *Petri* plates were counted. Same effect on hyphal architecture and sporulation was noticed in M media containing 100 $\mu\text{g/g}$ Zn (not shown here).



Figure 3.3 Hyphal network with only few spores after 10 weeks (Petri distal side, 25X) (M media: Cd 20 $\mu\text{g/g}$). Spore population was approximately 1,500 per half *Petri* plates. Note the spiral shaped hyphae probably as a response to high Cd exposure. Same effect on hyphal architecture was noticed in M media containing 500 $\mu\text{g/g}$ Zn (not shown here).



Figure 4.1 View of a compartmented Petri after 17 weeks. Modified *Glomus intraradices* colonized carrot roots are grown on the proximal side in M media. Only hyphae are able to cross over to the distal side containing either ZnCO_3 or CdCO_3 . Note the spore formation in the distal side.

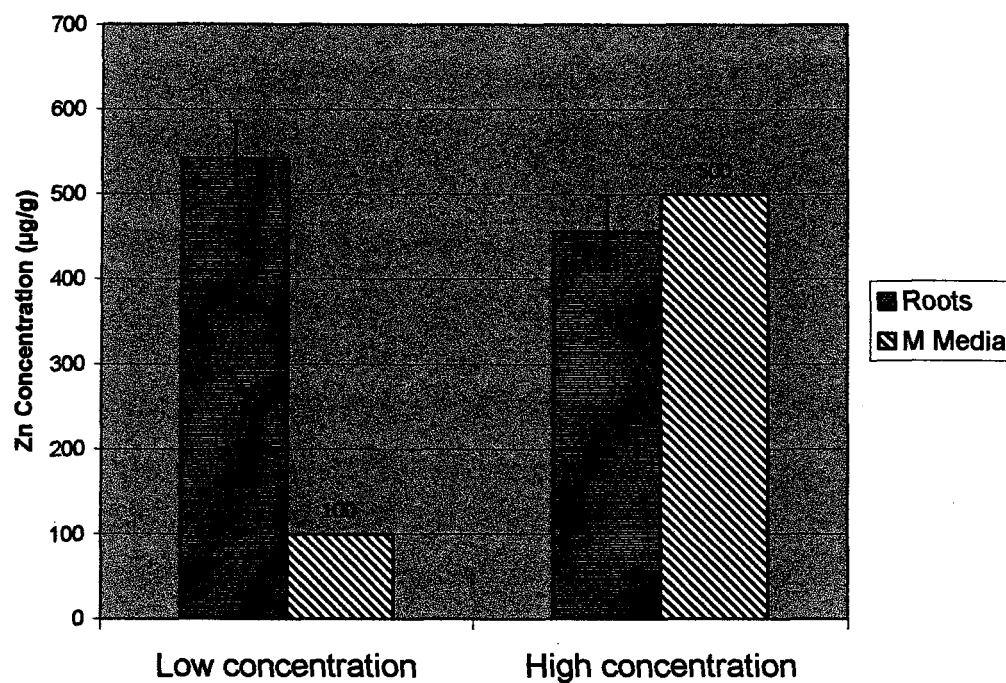


Figure 3.4 *In vitro* Experiment: Zinc concentrations in *Glomus intraradices* colonized carrot roots (Proximal side) Vs M Media (Distal side). Bars indicate standard error (n=10).

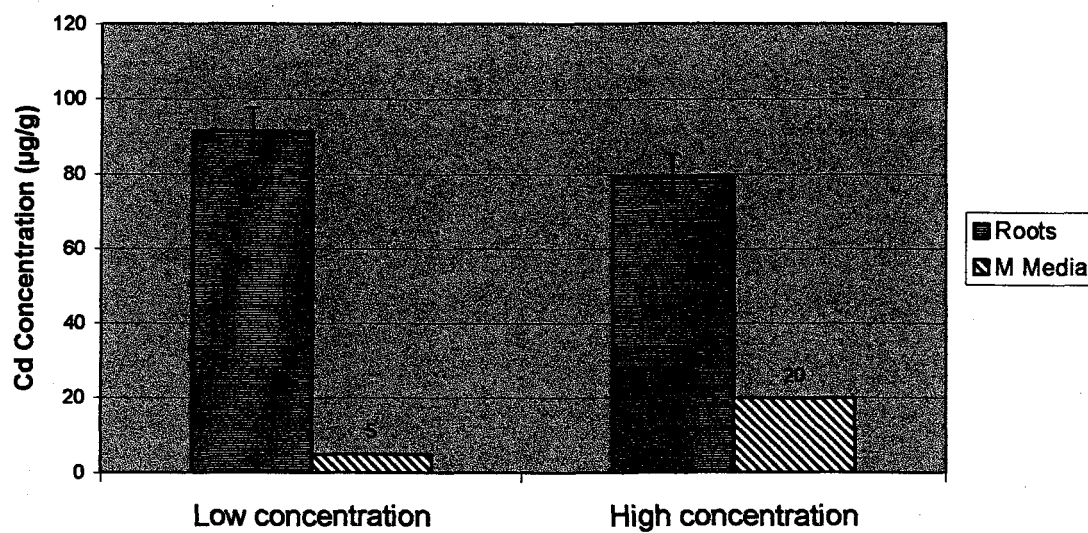


Figure 3.5 *In Vitro* Experiment: Cadmium concentrations in *Glomus intraradices* colonized carrot roots (Proximal side) Vs M Media (Distal side). Bars indicate standard error (n=10).

CHAPITRE 3

ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI INVOLVEMENT IN ZN AND CD SPECIATION CHANGE AND PHYTOACCUMULATION

PHILIPPE GIASSEN et ALFRED JAOUICH

Département des Sciences de la Terre et de l'Atmosphère, Université du
Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec,
Canada, H3P 3P8.

et

SERGE GAGNÉ et PETER MOUTOGLIS

Premier Tech Biotechnologies, 1 av. Premier, Rivière-du-Loup, Québec,
Canada, G5R 6C1.

(Article publié dans Remediation en 2005, vol. 15 (2) : 75-81)

RÉSUMÉ

La phytorestauration est une technologie éprouvée pour la réhabilitation des sols. L'accumulation des métaux lourds (Zn, Cd, As, et Se) par la végétation a déjà montré précédemment qu'elle pouvait être améliorée par l'inoculation des racines par des endomycorhizes. Des expériences in vitro en laboratoire ont été effectuées pour vérifier l'effet des hyphes endomycorhiziens (*Glomus intraradices*) sur la spéciation de métaux lourds essentiels (Zn) et non-essentiels (Cd) de manière à les changer d'une forme carbonatée non soluble dans l'eau à une forme soluble et phytodisponible. Les résultats montrent que les métaux sous forme carbonatée peuvent être rendus solubles dans l'eau par les hyphes endomycorhiziens. Ce phénomène est observé autant avec les métaux non-essentiels (Cd) qu'essentiels (Zn). Une saturation en zinc dans les racines est atteinte autour de 400ppm, indépendamment des concentrations initiales de ZnCO_3 . Pour le cadmium, la saturation n'est pas atteinte ; dans le traitement faible en Cd, le ratio de métal plante/milieu est 3:1 et dans le traitement élevé, le ratio est 1:1.

Mots clés: Sols contaminés, Métaux lourds, Cadmium, Zinc, Spéciation, Phytorestauration, Champignons mycorhiziens à arbuscules, *Glomus intraradices*.

ABSTRACT

Phytoremediation is a proven technology for soil rehabilitation. The enhancements of accumulations of heavy metals (Zn, Cd, As and Se) in plants have previously been shown by inoculation of roots using arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). *In vitro* lab experiments were conducted to verify the effects of AMF (*Glomus intraradices*) hyphae on speciation of essential zinc (Zn) and non-essential cadmium (Cd) heavy metals in order to change these metals from a water-insoluble carbonate to soluble and phytoavailable form. Results show that in the presence of heavy metals in a non-available form to plants, AMF hyphae can change the metal from carbonate to water-soluble species. This phenomenon is more apparent with a non-essential (Cd) than with an essential metal (Zn). Zn saturation is reached in the *G. intraradices* colonized roots at around 400ppm, independently of initial ZnCO_3 concentrations. Cd saturation is not reached; in the lower Cd treatment, plant/media metal ratio is 3:1 and in the higher treatment, ratio is 1:1.

Key words: Contaminated soils, Heavy metals, Cadmium, Zinc, Speciation, Phytoremediation, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, AMF, *Glomus intraradices*.

INTRODUCTION

Phytoremediation is a proven technology for soil rehabilitation (Baker *et al.*, 1988; Kumar *et al.*, 1995; Giasson and Jaouich, 1998; Salido *et al.*, 2003). Plant roots sequester and assimilate heavy metals and then translocate them to their aerial parts. Plants are harvested and disposed of safely.

Easily extractable and exchangeable heavy metal species by plants include water soluble, exchangeable, and bound to reducible iron (Fe) and manganese (Mn) oxides fractions (Dinel *et al.*, 2000). However, heavy metals bound to or occluded by carbonates are more difficult to extract by vegetation. Carbonates can be the dominant heavy metal sink in a particular soil. Heavy metals may coprecipitate with carbonates, being incorporated in their structure, or may be sorbed by oxides (mainly Fe and Mn) that were precipitated onto the carbonates or other soil particles (Kabata-Pendias, 2001).

On the other hand, accumulation of heavy metals (Zn, Cd, As and Se) in plants can be enhanced by inoculation of roots by arbuscular mycorrhizae fungi (AMF) (Giasson *et al.*, 2005). Mycorrhizal fungi are able to acidify the rhizosphere by releasing organic acids like citric and oxalic acids (Leyval and Joner, 2001). The most important mechanisms for regulating heavy metal behaviour by carbonates are related to variation of the soil pH. These carboxylic acids released by AMF could solubilize heavy metals bound to carbonates and enhance their phytoaccumulation.

In vitro lab experiments were conducted to understand the impact of endomycorrhizal fungi on speciation and bioavailability of heavy metals to plants. More precisely, we wanted to verify the effects of endomycorrhizal (*Glomus intraradices*) hyphae on speciation of essential (Zn) and non-essential (Cd) heavy metals in order to change these water-insoluble carbonate form to a soluble and phytoavailable form.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was performed *in vitro*. Transformed carrot roots (Bécard and Fortin, 1988) colonized by *Glomus intraradices* were grown in phytagel using double compartment Petri dishes. Colonized roots were put in M media containing macro and micro-elements (Bécard and Fortin, 1988) on the proximal side (Figure 4.1). Essential (zinc) and non-essential (cadmium) heavy metal were added separately in the M media on the distal side of the Petri. Zinc and cadmium were added in a water-insoluble carbonate form (ZnCO_3 and CdCO_3) in order to obtain two different concentrations for each metal (Zn: 500 and 1500ppm, and Cd: 20 and 200ppm) in the Petri. Initial pH in the media was adjusted to 5.5. Petri dishes were kept in an incubator at 26°C for 20 weeks making sure no root crosses to the distal side. Ten replicates were done for all treatments. Roots were then dried and digested in Kimax tubes in 10mL HNO_3 and heated on a hot plate at 95°C for 180 minutes until no root biomass was left (CEAEQ, 2004) prior to flame atomic absorption spectroscopy analysis.

Zinc and cadmium sequential speciation extractions (Dinel et al, 2000) were done on a contaminated soil near a zinc smelter in Canada. H_2O was used to extract water soluble specie, CaCl_2 for exchangeable specie, CaCl_2 -OH-quinone for bound to reducible Fe and Mn oxides specie, acetic acid for strongly bound to minerals or weakly bound to OM specie, DTPA for strongly chelated by OM specie, HCl for bound to or occluded by carbonates specie, KCN for bound to or occluded by sulfides, and finally *aqua regia* ($\text{HNO}_3 + \text{HCl}$) for detrital, lattice and residual metal species. Soil Zn and Cd species extractions were analysed by flame atomic absorption spectroscopy.

RESULTS AND DISCUSSION

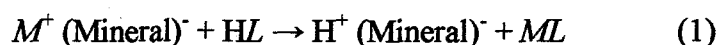
After 10 weeks, hyphae are well developed with a lot of spores in the two different CdCO_3 treatments (Figure 4.2). However, in the ZnCO_3 treatments, hyphae are difficult to see because of the high concentrations of carbonates.

Availability and toxicity of heavy metals depend on their forms rather than on total amounts. The availability of the eight metal fractions can be divided into three groups: (1) easily extractable and exchangeable: including water soluble, exchangeable, and bound to reducible Fe and Mn oxides fractions, (2) potentially extractable and exchangeable: including strongly bound to minerals or weakly bound to OM, strongly chelated by OM, bound to or occluded by carbonates, bound to or occluded by sulfides fractions, and (3) non extractable and non exchangeable found in residue fraction (Dinel et al, 2000).

Zn and Cd speciation concentrations measurements from contaminated soil near a zinc smelter in Canada (Figure 4.3 and 4.4) show that the metal fraction distribution is similar for Zn and Cd. In fact, the easily extractable and exchangeable fractions represent less than 27% for both Zn and Cd, which is not interesting for a phytoremediation technology. On the other hand, the potentially extractable and exchangeable fractions up to the bound to or occluded by carbonates fraction regroup around 86% of the metal total concentration for both Zn and Cd.

In vitro experiments have been made to see if *G. intraradices* hyphae could change a water-insoluble carbonate metal fraction to soluble and available form in a phytoremediation perspective. Results indicate that there is a solubilisation of ZnCO_3 by hyphae and translocation to roots (Figure 4.5).

In fact, mycorrhizal fungi are able to acidify the rhizosphere by releasing organic acids like citric and oxalic acids (Leyval and Joner, 2001). These organic acids can form coordination compounds or complexes with metals. If the organic acids, e.g. citric and oxalic acids, contains two or more electron donor groups so that ring-like structures are formed, then the resulting complexes are metal chelates (Gadd, 2000). Berthelin *et al* (2000) showed that releases of organic acids by ectomycorrhizae are efficient in weathering and solubilization of minerals by the following complexation dissolution processes:



where L = organic ligands and $M^+ (\text{Mineral})^-$ are silicates, carbonates, phosphates, etc.

However Zn saturation is reached in the colonized roots at around 400ppm, independently of initial ZnCO_3 concentrations (Figure 4.5). In the lower Zn treatment, there is a plant/media metal ratio of 1:1, while in the higher treatment the ratio is 0.5:1.

In the case of CdCO_3 , root Cd saturation is not reached (Figure 4.6). At 20ppm Cd as CdCO_3 in the Petri, there is more than a 3 fold (68ppm) Cd accumulation in the *G. intraradices* colonized roots, while at 200ppm Cd as CdCO_3 , there is a one fold (238ppm) Cd phytoaccumulation.

To summarize, the results show that in presence of heavy metals in a non-available form to plants, AMF hyphae can change the metal from a carbonate to water-soluble specie. Hyphae exude organic acids like citric and oxalic acids that make heavy metals soluble. This phenomenon is more apparent with a non-essential (Cd) than with an essential metal (Zn). Zn saturation is reached in the *G. intraradices* colonized roots at around 400ppm, independently of initial ZnCO_3 concentrations. Cd saturation is not reached; in

the lower Cd treatment, plant/media metal ratio is 3:1 and in the higher treatment, ratio is 1:1.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the “Fonds d’Action Québécois pour le Développement Durable” (FAQDD) and the “Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies” for their financial support. Also, we thank the UQAM assistants, Pierre Cayer, Nicolas Sbarrato and Simon Dutil-Paquette, for helping with sample preparation and analysis.

REFERENCES

- Baker, A., Brooks, R., and Reeves, R. 1988. Growing for gold... and copper... and zinc. New Scientist, 1603: 44-48.
- Becard, G. and Fortin, J.A. 1988. Early events of vesicular arbuscular mycorrhizae formation on Ri T-DNA transformed roots. New Phytologist 108: 211-218.
- Berthelin, J., Leyval, C. and Mustin, C. 2000. Illustrations of the occurrence and diversity of mineral-microbe interactions involved in weathering of minerals. Pp. 7-25. *In* Cotter-Howells, J.D., Campbell, L.S., Valsami-Jones, E. and Batchelder, M. (Eds): Environmental mineralogy: Microbial interactions, anthropogenic influences, contaminated land and waste management. Mineral Society Series, 9. Mineral Society, London.
- Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ). 2004. Détermination des métaux : méthode par spectrométrie de masse à source ionisante au plasma d'argon. MA. 200 – Mét 1.1, Ministère de l'Environnement du Québec, 37 p.
- Dinel, H., Pare, T., Schnitzer, M. and Pelzer, N. 2000. Direct land application of cement kiln dust- and lime-sanitized biosolids: extractability of trace metals and organic matter quality. Geoderma 96: 307-320.
- Gadd, G.M. 2000. Heterotrophic solubilization of metal-bearing minerals by fungi. Pp. 57-75. *In* Cotter-Howells, J.D., Campbell, L.S., Valsami-Jones, E. and Batchelder, M. (Eds): Environmental mineralogy: Microbial interactions, anthropogenic influences, contaminated land and waste management. Mineral Society Series, 9. Mineral Society, London.
- Giasson, P.; Jaouich, A.; Gagné, S.; Massicotte, L.; Cayer, P. and Moutoglis, P. (2005). Mycorrhizoremediation of heavy metals (As, Cd, Se, Zn) contaminated soil by AM fungi, *Glomus* and *Gigaspora* spp., and grasses and clover mix – A glasshouse study. Manuscript submitted for publication.
- Giasson, P. and Jaouich, A. 1998. La phytorestauration des sols contaminés au Québec. Vecteur Environnement, 31: 40-53.

- Kabata-Pendias, A. 2001. Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, Fl., 3rd Edition, 413p.
- Kumar, P.B.A.N.; Dushenkov, V.; Motto, H.; Raskin, I. 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. Environmental Science & Technology, 29: 1232-1238.
- Leyval, C. and Joner, E. 2001. Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere. In Gobran, G.R., Wenzel, W.W., and Lombi, E. (Eds). Trace elements in the rhizosphere. CRC Press, New York, p. 165-185.
- Salido, A.L.; Hasty, K.L.; Lim, J.-M.; Butcher, D.J. 2003. Phytoremediation of arsenic and lead in contaminated soil using Chinese brake ferns (*Pteris vittata*) and Indian mustard (*Brassica juncea*). International Journal of Phytoremediation, 5: 89-103.



Figure 4.1 View of a compartmented Petri after 17 weeks. Modified *Glomus intraradices* colonized carrot roots are grown on the proximal side in M media. Only hyphae are able to cross over to the distal side containing either ZnCO_3 or CdCO_3 . Note the spore formation in the distal side.

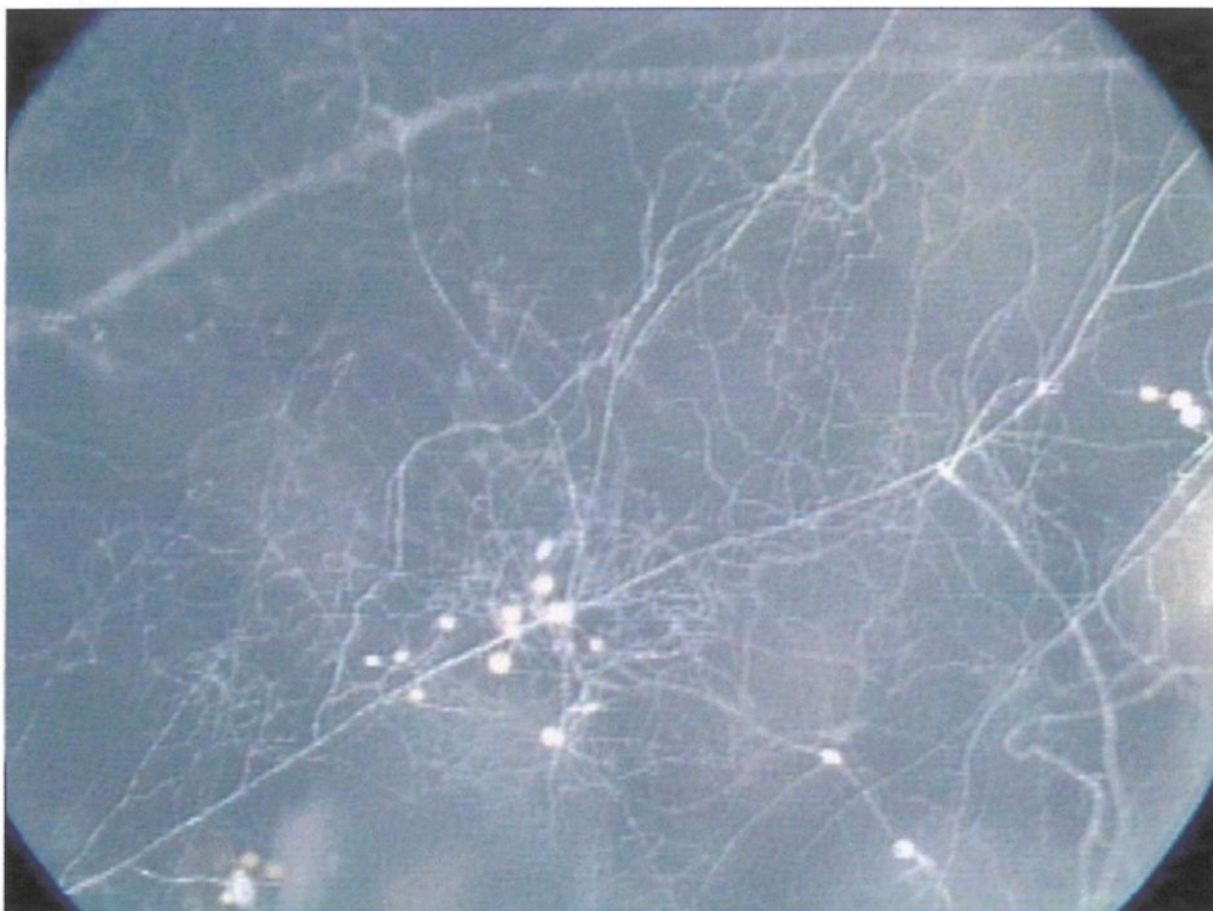


Figure 4.2 View of *Glomus intraradices* hyphae and spores in petri distal side containing 20ppm Cd in CdCO_3 form. Note the well-developed hyphal architecture. (25X). Same effect on hyphal architecture and sporulation is noticed in M media containing 200ppm Cd in CdCO_3 form (not shown here).

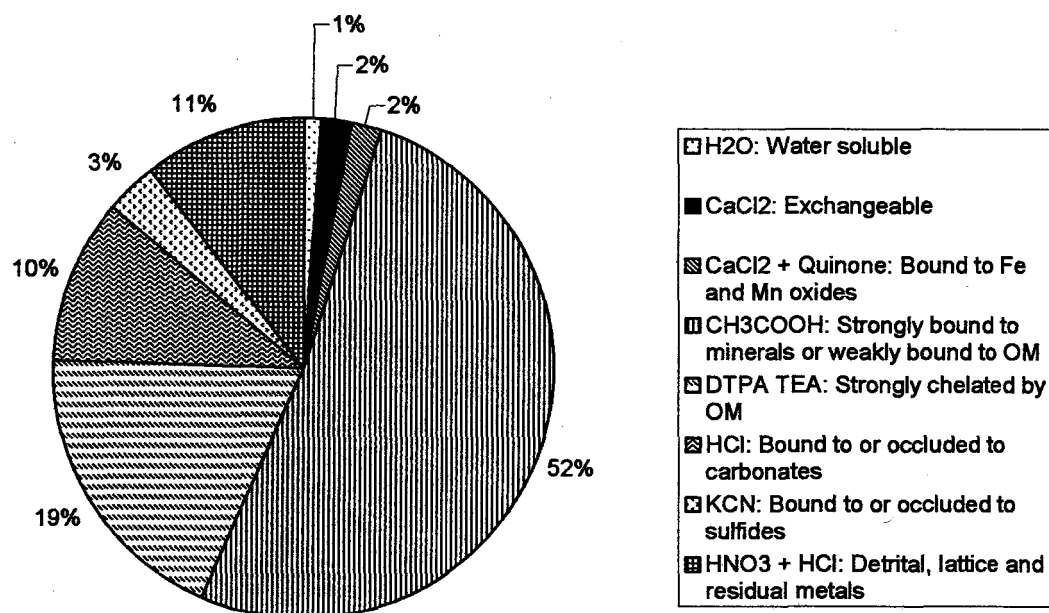


Figure 4.3 Zinc sequential speciation extracting agent and extraction percentage in a contaminated soil near a zinc smelter. Total Zn soil concentration: 10600ppm.

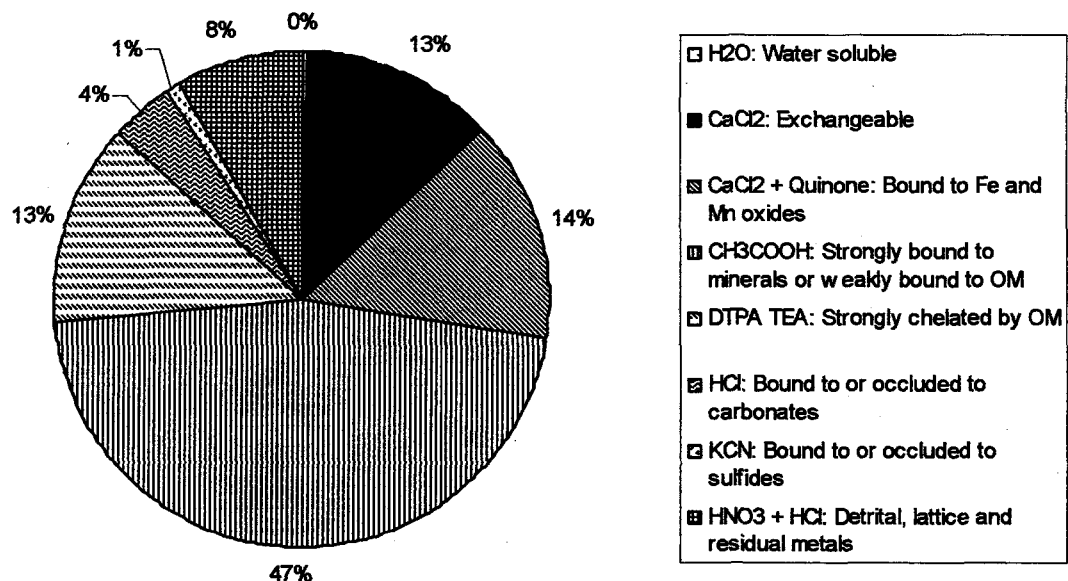


Figure 4.4 Cadmium sequential speciation extracting agent and extraction percentage in a contaminated soil near a zinc smelter. Total Cd soil concentration: 50ppm.

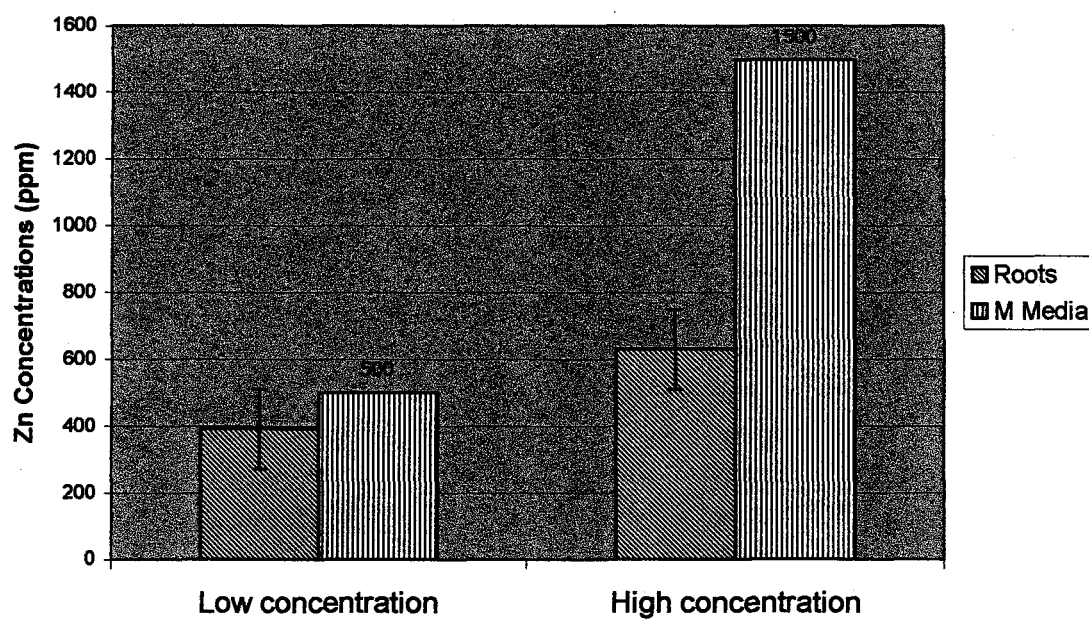


Figure 4.5 *In vitro* Experiment: Solubilization of ZnCO_3 by Hyphae and Uptake of Zn by *Glomus intraradices* Colonized Carrot Roots. Bars indicate standard error (n=10).

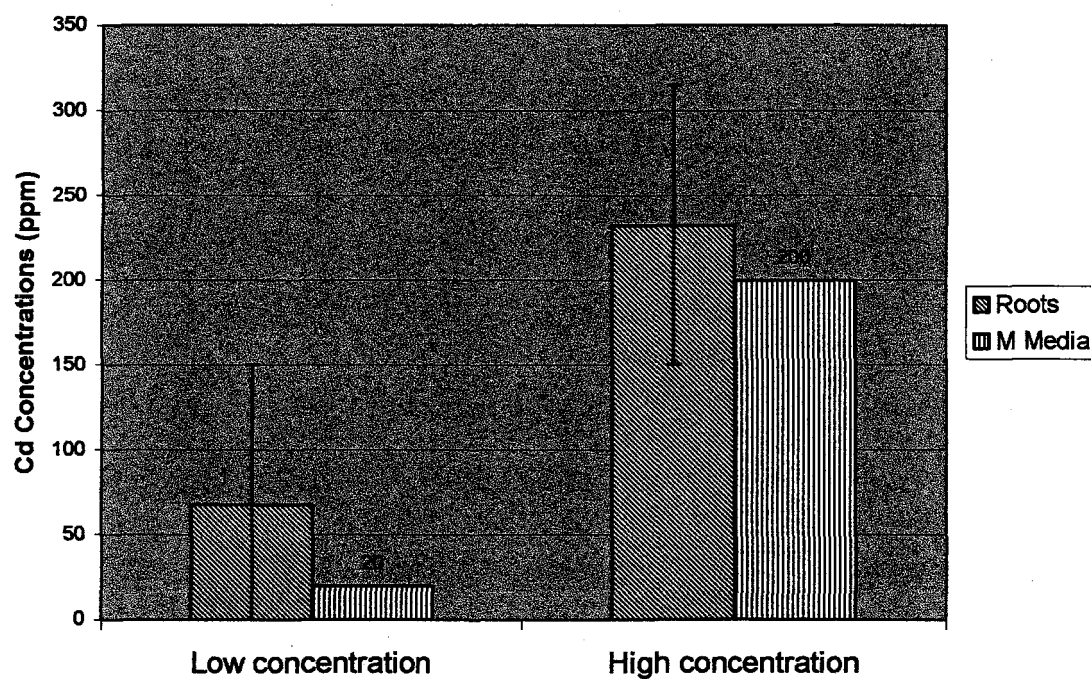


Figure 4.6 *In vitro* Experiment: Solubilization of CdCO_3 by Hyphae and Uptake of Cd by *Glomus intraradices* Colonized Carrot Roots. Bars indicate standard error (n=10).

CHAPITRE 4

PHYTORESTAURATION DES SITES CONTAMINÉS: MÉTHODES DE DISPOSITION DES PLANTES RÉCOLTÉES

PHILIPPE GIASSON et ALFRED JAOUICH

Département des Sciences de la Terre et de l'Atmosphère, Université du
Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec,
Canada, H3P 3P8.

HUGHES CHARBONNEAU

Gestion Compost inc., 192, Bellevue, Hudson, Québec, Canada, J0P 1H0.

et

LUC MASSICOTTE

SNC Lavalin Environnement, 455, Boul. René-Lévesque Ouest, Montréal,
Québec, Canada, H2Z 1Z3.

(Article publié dans Vecteur Environnement, Septembre 2004, Vol. 37, No. 5 : 42-46)

RÉSUMÉ

La phytorestauration ou phytoextraction est une technologie valable pour réhabiliter les sites contaminés notamment aux métaux lourds. Les plantes récoltées sont des matières résiduelles fertilisantes (MRF) et sont riches en métaux lourds. La question qui fait souvent surface en phytorestauration touche le mode de disposition des plantes récoltées. Dans cette étude, une première méthode de disposition a consisté à composter les parties végétales récoltées, et une deuxième méthode a été l'incinération à basse température pour recycler les métaux concentrés dans les cendres. Le compost final est en dessous des critères C2 fixés par le Guide de valorisation des matières fertilisantes pour tous les métaux. Un compost de catégorie C2 n'a pas de restriction quant à son utilisation sauf une limite de charge des résidus de 22 tonnes (b.s.)/ ha / 5ans. Il pourrait servir de recouvrement sur des terrains pauvres et peu fertiles. Il est aussi possible, après incinération des plantes récoltées à basse température (500°C), de recycler les métaux concentrés dans les cendres par des techniques de chélation ou en les acheminant vers les fours des fonderies de métaux à titre de minerai.

Mots clés : Sols contaminés, métaux lourds, zinc, cadmium, arsenic, sélénium, phytorestauration, matières résiduelles fertilisantes, compostage, incinération, récupération.

INTRODUCTION

La phytorestauration ou phytoextraction est une technologie valable pour réhabiliter les sites contaminés notamment aux métaux lourds. Elle s'appuie sur le processus d'absorption des métaux lourds par les plantes. En bref, les métaux sont séquestrés puis assimilés par les racines, pour ensuite être transférés vers les parties aériennes des plantes (Figure 5.1). Ces dernières sont récoltées selon les techniques agricoles conventionnelles, puis disposées à l'extérieur de l'aire contaminée. Les plantes récoltées sont des matières résiduelles fertilisantes (MRF) et sont riches en métaux lourds.

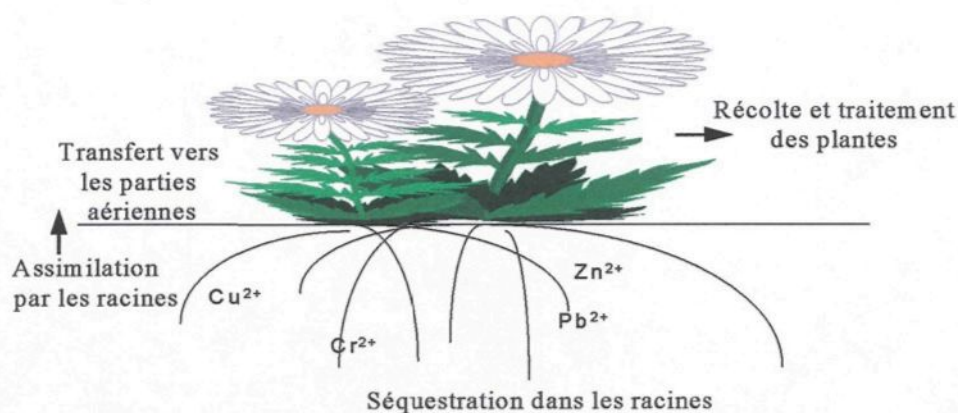


Figure 5.1 Schéma d'application de la technologie de phytorestauration aux sols contaminés aux métaux. Les courbes représentent les racines qui séquestrent et assimilent les métaux lourds. Ces métaux sont ensuite transférés vers les parties aériennes des plantes. Ces dernières sont finalement récoltées et traitées en dehors du site (Giasson et Jaouich, 1998).

La question qui fait souvent surface en phytorestauration touche le mode de disposition des plantes récoltées. Les méthodes de disposition possibles sont le compostage, l'incinération à basse température et récupération des métaux, et l'enfouissement dans les lieux d'enfouissement sanitaires (LES).

DESCRIPTION DES ESSAIS DE PHYTORESTAURATION

Des essais de phytorestauration ont été effectués en parcelles cultivées sur un terrain contaminé aux métaux lourds dans la région de Montréal de 2002 à 2003 (Voir Figure 5.2). La superficie cultivée était divisée en 32 parcelles de 3m par 4m (12m²) pour un total de 384m². Les concentrations moyennes en métaux lourds étaient les suivantes : Zn (6249ppm), Cd (32ppm), Se (8.4ppm), As (15ppm), et Pb (94ppm). Au printemps, le site a préalablement été labouré et ensuite ensemencé avec le mélange Gloco^{MC} spécialement adapté aux sites dégradés. Il est composé des espèces suivantes : 25% Agropyre à crête, 20% Fétuque rouge traçante Salsa, 20% Fétuque élevée Typton, 15% Raygrass vivace Vail, 11% Fétuque durette Slalon, 5% Lotier corniculé, et 4% Trèfle blanc. Durant l'été, des espèces végétales indigènes (composées essentiellement de verge d'or, de vesce jargeau et de phragmite) ont aussi crû parmi les espèces semées et ont fini par représenter environ 10% de la biomasse végétale totale du site. Dans chaque parcelle, la végétation était inoculée avec une des trois espèces de champignon mycorhizien suivantes : *Glomus intraradices*, *G. mossae*, *G. etunicatum*, ou un témoin sans mycorhize. Chaque traitement plante/mycorhize était répété 8 fois.



Figure 5.2 Photo du site prise le 20 juillet 2002.

Au mois d'octobre suivant, la végétation a été récoltée et compostée hors du site. La biomasse végétale totale récoltée sur les 32 parcelles était de 52.2kg (base humide) ce qui représente environ 1.4 tonnes par hectare. La végétation échantillonnée contenait les métaux lourds suivants : Zn (1880ppm), Cd (21ppm), Se (3.9ppm), As (0.3ppm) et Pb (18ppm).

1. COMPOSTAGE DE LA VÉGÉTATION RÉCOLTÉE EN PHYTORESTAURATION

Une première méthode de disposition consiste à composter les parties végétales récoltées. Pour les fins des essais, le compostage a été réalisé dans un composteur domestique fabriqué sur mesure (Voir Figure 5.3). Sa base est constituée par une palette de bois franc et un grillage métallique de maillage 1.5cm a été ajouté au fond. L'espace entre le fond de la boîte et le sol est d'environ 15 centimètres. Ceci favorise la convection naturelle de l'air, assurant un certain approvisionnement en oxygène aux microorganismes. De plus, les murs du contenant sont ajourés afin de permettre à l'air de pénétrer. Les dimensions du composteur sont 1.1m x 1.1m x 1.1m pour donner un

volume intérieur de $1,3 \text{ m}^3$. Le volume minimal recommandé pour un composteur est de 1 m^3 .



Figure 5.3 Photo du composteur domestique (1.1m x 1.1m x 1.1m).

1. 1 Intrants et suivi effectué (prises de températures et quantités)

Le conditionnement initial des matières putrescibles dans le composteur a impliqué un apport d'eau adéquat. La fin du mois d'octobre a été particulièrement froide en 2002. Des températures de compostage supérieures à 20 degrés Celsius ne se sont maintenues que durant près d'un mois, en dépit des basses températures extérieures de -7 à 7 degrés Celsius. La température maximale observée dans le compost à l'automne 2002 était de 34 degrés Celsius. Cette température n'est pas optimale. Ceci peut être dû à de multiples facteurs, notamment l'hétérogénéité du mélange, la grosseur des particules de végétation (non broyée), les basses températures extérieures de démarrage et le rapport C/N trop élevé (environ 60 :1).

En effet, la végétation a été récoltée à un stade mature (octobre) ce qui explique en partie le rapport C/N élevé. On pouvait noter un pourcentage non négligeable de feuilles jaunies au moment de la récolte. Le rapport C/N de la végétation était possiblement trop élevé pour induire une augmentation adéquate (à 55-65 degrés Celsius) de la température, compte tenu du faible volume de matières. Le compostage démarre alors lentement car les microorganismes (bactéries, champignons) dans le compost ont besoin d'azote pour décomposer la matière organique (Brady et Weil, 2002).

Pour accélérer la phytoextraction des métaux lourds du sol, il serait suggéré de récolter la végétation deux fois plutôt qu'une par saison de croissance, soit en juillet et en octobre. En effet, les espèces végétales utilisées sont essentiellement des plantes pérennes (fétuque, agropyre) et croissent tout l'été. Une étude menée par Giasson *et al* (2004) montre qu'il y a saturation en métaux lourds dans la végétation après 10 à 12 semaines de croissance et qu'après, il peut y avoir des signes de dessèchement des tissus végétaux causé par les métaux lourds. En effet, des teneurs élevées en métaux lourds comme Zn, Cd, As et Se peuvent causer des chloroses et des nécroses sur les feuilles (Kabata-Pendias, 2001). Ainsi, le compost initié en juillet serait en voie de maturation lors de l'ajout de la deuxième récolte. Il n'y aurait pas de ralentissement de l'activité des microorganismes dans le compost tel qu'observé dans cette expérience. Le suivi des températures démontre qu'une activité biologique a eu lieu (Voir tableau 5.1).

Tableau 5.1 Suivi des températures dans le compost.

Mois	Température moyenne
Octobre 2002	30°C
Novembre 2002	31°C
Mi-décembre 2002	20°C
Fin décembre 2002 à avril 2003	0°C
Mai 2003	15°C
Juin 2003	40°C
Juillet 2003	34°C

Avant d'initier le compostage, la végétation récoltée a été entreposée pendant environ une semaine à l'extérieur dans des sacs en plastique fermés. À l'ouverture des sacs, une forte odeur de sélénium (semblable à l'ail souffré) s'en dégageait. Pour cette raison l'homogénéité du mélange de départ n'est pas optimale puisque le composteur a été rempli rapidement afin de limiter l'exposition à ces odeurs inhabituelles. Le mélange de départ pour le compostage sur le site a été constitué des plantes récoltées sur le site, en alternance avec des couches de copeaux et de sciures.

L'odeur de sélénium dans le compostage a par la suite été observée lors de prises de températures en octobre 2002. Ceci porte à croire qu'une application à une échelle plus importante nécessiterait des précautions supplémentaires pour l'opérateur.

Les principales sources de carbone sont les copeaux et les sciures de bois, comprenant plusieurs grosseurs de particules de bois variant entre 1mm et 4cm, et sont composées de feuillus (bouleau, érable, peuplier et aulne). Le rapport C/N des sciures peut être aussi

élevé que 400 :1. Une petite broyeurse à copeaux a été utilisée pour homogénéiser le mélange copeaux/sciure. Une fraction fine est ainsi produite par cette broyeurse.

Le compost a gelé en profondeur durant l'hiver puisque la masse était insuffisante pour produire la chaleur nécessaire pour composter à des températures extérieures hivernales. Comme la teneur en eau était optimale, le compost a gelé en profondeur. Environ deux semaines de temps chaud ont été nécessaires au printemps pour dégeler la masse. Il était nécessaire aussi de briser la glace à tous les deux jours sur le dessus et de laisser dégeler une nouvelle partie, jusqu'à ce que les deux tiers de la boîte soient dégelés. Voir les interventions effectuées sur le compost au printemps 2003 dans le tableau 5.2. Des intrants ont été ajoutés aux mois de mai et juin 2003 : résidus de table, sciure, compost et herbe afin de réactiver le compost.

En mai 2003, le compost a commencé à chauffer dans la partie supérieure de la boîte, puis vers le fond. Le fond de la boîte est demeuré à 0-5 degrés Celsius pendant environ deux semaines alors que la moitié supérieure chauffait (> 30 degrés Celsius) et que la température extérieure dépassait 0 degré Celsius la nuit et 15 degrés le jour. Après quelques semaines, la température de la partie supérieure diminuait sous les 30 degrés Celsius.

Le compost fut alors transféré en tas afin d'en assurer le mélange et l'oxygénation. Le compost a été couvert d'une membrane Compostex^{MC} de la compagnie Texel. La température a ensuite augmenté tranquillement jusqu'à 50 degrés Celsius puis a diminuée à 44 quelques jours après puis à 38-42 pour plusieurs semaine. La température a ensuite diminué à 30-34°C jusqu'à la prise de l'échantillon (mi-juillet) et augmenté ensuite à 39°C durant les jours suivants. Au mois d'août, la température était stabilisée à 30 degrés Celsius.

Tableau 5.2 Interventions et suivi des températures au printemps 2003.

Date	Interventions et suivi des températures
Mars 2003	ajout de polythène sur le dessus pour augmenter la température
Avril 2003	dégel de la masse par couches successives
Mai 2003	ajout de 150 kg d'intrants : (sciure (40 kg à 10% d'eau), compost (40 kg à 60 % d'eau), résidus de table (70 kg à 85% d'eau)
Mai 2003	mélange et transfert en tas
Juin 2003	ajout de 23 kg d'herbes fraîches (teneur en eau : environ 65%)
Juillet 2003	stabilisation des températures à environ 30 degrés Celsius et échantillonnage

1. 2 Interprétations des observations

Le poids du compost en août 2003 était de 196 kg base humide (une semaine très pluvieuse a précédé les pesées). Le poids total des intrants est 354,16 kg base humide. Ainsi, on observe une perte de poids de 158 kg (ou 44,6%).

En volume, la végétation contaminée représentait près de 50% du mélange. À grande échelle, l'apport d'intrants, comme les copeaux et sciures, ne serait pas nécessaire. En effet, le rapport C/N de départ (60 :1) est déjà assez élevé. Avec maturation, le C/N devrait baisser à 20 :1 car le carbone dans le compost est perdu dans l'atmosphère sous forme de CO₂ (Brady et Weil, 2002). À grande échelle, si la végétation est retournée régulièrement pour incorporer de l'oxygène dans le compostage, ce dernier devrait facilement se rendre à maturation sans l'apport d'autres intrants. De plus, dans la végétation récoltée on retrouve un environ 10% des espèces dans la famille des Légumineuses (trèfle et lotier). Celles-ci sont riches en azote (N) nécessaire à la prolifération des bactéries. Cet azote permet un démarrage rapide du processus de compostage.

Bien que le compost n'était pas tout à fait mature au moment de la prise de l'échantillon (17 juillet 2003) puisque l'on pouvait y reconnaître certains intrants (herbes et bois fin), le compost était cependant suffisamment mature pour être inodore et brun foncé. De plus, l'évolution des températures de même que la réduction de volume témoignent du processus de compostage.

Selon le Guide de valorisation des matières résiduelles fertilisantes (MDDEP, 2004), les intrants, *i.e.* les plantes récoltées en phytorestauration, n'ont pas à respecter les teneurs limites en contaminants chimiques. Par contre, le mélange fini doit les respecter intégralement. Les teneurs en métaux lourds dans le compost fini sont présentées dans le tableau 5.3. Le compost est considéré dans la catégorie C2 d'après le Guide sur la valorisation des matières résiduelles fertilisantes (, 2004) car tous les paramètres sont inférieurs aux critères C2. Un compost de catégorie C2 n'a pas de restriction quant à son utilisation sauf une limite de charge des résidus de 22 tonnes (b.s.)/ ha / 5ans. Ce compost pourrait être utilisé notamment pour amender des terrains abandonnés ou décapés, des terrains de golf, des milieux forestiers, ou pour recouvrir des parcs à résidus miniers ou des haldes de stériles. Il ne serait toutefois pas suggéré de l'utiliser en agriculture.

Tableau 5.3 Comparaison des teneurs en métaux lourds (ppm) dans le sol, dans la végétation récoltée sur ce sol, et dans le compost élaboré à partir de ces plantes récoltées par rapport au critères de compost de catégories C1 et C2.

	Zn (ppm)	Cd (ppm)	Se (ppm)	As (ppm)	Pb (ppm)
Sol	6249	32	8.4	15	94
Végétation	1880	21	7.1	0.3	18
Compost	1272	10	1.2	0.6	17
Catégorie C1	700	3	2	13	150
Catégorie C2	1850	10	14	40	300

2. INCINÉRATION DE LA VÉGÉTATION RÉCOLTÉE EN PHYTORESTAURATION ET RÉCUPÉRATION DES MÉTAUX

Sur le même site contaminé que dans l'expérience précédente, des échantillons de plantes récoltées ont été incinérées à basse température (500°C) pour éviter de dépasser la température de volatilisation des métaux et ainsi tenter de concentrer les métaux dans les cendres.

2.1 MÉTHODOLOGIE

Une prise d'essai de 1,2 g d'échantillon de végétation séchée à la température de la pièce a été placée dans un creuset en porcelaine préalablement taré, puis placée dans un four moufle à 500°C pendant une nuit (16 heures) (Brooks, 1998). Après avoir été pesées, les cendres ont été reprises dans 15 mL de HCl à 33% puis complétées à 40 mL avec de l'eau déionisée. Les solutions obtenues ont ensuite été analysées par absorption atomique, selon l'adaptation de la méthode utilisée par le Ministère de l'Environnement du Québec (CEAEQ, 2004).

2.2 RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le tableau 5.4 présente les teneurs en métaux dans le sol, les tissus végétaux et les cendres des végétaux. Les concentrations en Se (7.1ppm) mesurées dans la végétation récoltée sont bien au dessus des teneurs moyennes (13ppb) retrouvées dans les graminées au Canada (Kabata-Pendias, 2001). De même, les teneurs en Zn (1880ppm) et Cd (21ppm) sont bien au dessus des niveaux excessifs (respectivement 350 et 2 ppm) retrouvés dans les graminées croissant sur d'anciens sites miniers dans le monde (Kabata-Pendias, 2001).

Tableau 5.4 Teneurs en métaux lourds dans les sols, les tissus végétaux, les cendres des végétaux, et le facteur de concentration cendre:tissus. Les teneurs en métaux dans la sphalérite sont aussi présentées ainsi que la température d'ébullition des différents métaux.

	Zn	Cd	Se	As	Pb
Sol (ppm)	6249	32	8,4	15	94
Tissus végétaux (ppm)	1880	21	7,1	0,3	18
Cendres (ppm)	12896	101	100	2,6	112
Rapport cendres/tissus	7 :1	5 :1	14 :1	9 :1	6 :1
Sphalérite (ppm)	> 20000	< 1000			
Température d'ébullition	907°C	765°C	685°C	603°C	1740°C

Le groupe d'espèces récoltées (fétuques et agropyres) contiennent des métaux en quantités considérées comme élevées par Reeves et Baker (2000). En effet, ces derniers considèrent comme végétation « tolérante aux métaux » les espèces qui contiennent les quantités de métal suivantes : 10ppm Se, 20ppm Cd et 2000ppm Zn. De plus, ces plantes sont reconnues comme capables d'accumuler de grandes quantités de certains métaux bien au dessus des besoins physiologiques normaux et bien au-delà des niveaux trouvés dans la majorité des espèces, mêmes celles tolérantes aux sols métallifères (Reeves et Baker, 2000).

Il est possible par des techniques de chélation, de récupérer les métaux lourds présents dans les cendres. Selon Brooks (1998) le facteur de concentration des métaux lourds cendres/tissus devrait se situer entre 10 :1 et 15 :1. Cette valeur correspond à la perte de biomasse par incinération. Le meilleur rapport de concentration des métaux lourds cendres/tissus obtenu est de 14 :1 pour le sélénium.

Les plus faibles rapports cendres/tissus sont de 5 :1 pour le cadmium et 6 :1 pour le plomb. Bien que la température d'incinération des tissus végétaux (500°C) était bien en dessous des température d'ébullition des différents métaux (Voir Tableau 5.4), Brooks (1998) fait remarquer qu'il peut tout de même y avoir des pertes par volatilisation, du moins en partie, de certains métaux lourds comme cadmium, plomb, arsenic, et sélénium, notamment lorsque ces éléments sont associés aux chlorures qui sont volatiles.

Dans le cas du zinc, les teneurs dans les cendres sont près de 1.3% (12896ppm). Ces teneurs sont proches des concentrations minimales de Zn dans la sphalérite (2%), principal minéral de Zn au Québec. Ainsi, une avenue possible de disposition des plantes récoltées en phytorestauration serait de les acheminer vers une fonderie dans le but de recycler les métaux.

CONCLUSION

Le compostage de végétation issue de la phytorestauration d'un sol contaminé par As, Cd, Se et Zn a été réalisé sur une échelle pilote. Les résultats indiquent que le processus de compostage a eu lieu, même si les conditions de compostage n'étaient pas optimales (homogénéité du mélange; rapport C/N possiblement trop haut; basses températures extérieures (autour de 10°C) au démarrage, retournements peu fréquents. Bien que deux mois supplémentaires auraient été nécessaire afin d'obtenir un compost mature, l'évolution des températures et la réduction de volume observées indiquent que la majeure partie du processus s'est déroulé convenablement. Le compost final est en dessous des critères C2 fixés par le Guide de valorisation des matières fertilisantes (MDDEP, 2004) pour tous les métaux. Un compost de catégorie C2 n'a pas de restriction quant à son utilisation sauf une limite de charge des résidus de 22 tonnes (b.s.)/ ha / 5ans. Il pourrait servir de recouvrement sur des terrains pauvres et peu fertiles.

Il est aussi possible, après incinération des plantes récoltées à basse température (500°C), de recycler les métaux concentrés dans les cendres par des techniques de chélation ou en les acheminant vers les fours des fonderies de métaux à titre de minerai.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Fonds d'Action Québécois pour le Développement Durable (FAQDD) et le Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies pour leur soutien financier. De plus, nous voulons remercier les assistants à l'Université du Québec à Montréal, Pierre Cayer, Nicolas Sbarrato and Simon Dutil-Paquette, pour leur aide dans la préparation et l'analyse des échantillons.

RÉFÉRENCES

- BRADY, N.C. et WEIL, R.R. 2002. The nature and properties of soils. Prentice Hall, New Jersey, 13^{ème} édition, 960p.
- BROOKS, R.R. 1998. Plants that hyperaccumulate heavy metals. Their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining. CAB International. New York. P.18.
- CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC (CEAEQ). 2004. Détermination des métaux : Méthode par spectrométrie de masse à source ionisante au plasma d'argon. MA. 200 – Mét 1.1, Ministère de l'Environnement du Québec, Québec, 37 p. Site internet : <http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA200Met11.pdf>.
- GIASSON, P., JAOUICH, A., GAGNÉ, S., MASSICOTTE, L., CAYER, P., et MOUTOGLIS, P. 2004. Impact of vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM) on phytoremediation of heavy metal (As, Cd, Pb, Se, and Zn) contaminated soils. Intl. J. Phytorem. (soumis en août 2004).
- GIASSON, P. et JAOUICH, A. 1998. La phytorestauration des sols contaminés au Québec. Vecteur Environnement : vol. 31, no.4, p. 40-53.
- KABATA-PENDIAS, A. 2001. Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, Fl., 3^{ème} édition, 413p.
- MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, DE L'ENVIRONNEMENT ET DES PARCS (MDDEP). 2004. Guide sur la valorisation des matières résiduelles fertilisantes. Critères de référence et normes réglementaires. Gouvernement du Québec, Québec. 138 p. Site internet : http://www.mddep.gouv.qc.ca/matieres/mat_res/fertilisantes/critere/guide-mrf.pdf.
- REEVES, R.D. et BAKER, A.J.M. 2000. Metal-accumulating plants. *In* RASKIN, I and ENSLEY, B.D. Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment. John Wiley & Sons, Toronto, P. 193-230.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le but principal de ce projet de recherche et de développement était d'étudier l'impact de la colonisation mycorhizienne appliquée à la phytorestauration des sols contaminés aux métaux lourds (As, Cd, Pb, Se, et Zn) à l'aide de plantes indigènes au Québec et à biomasse élevée.

La colonisation mycorhizienne a montré une influence sur l'accumulation de divers métaux lourds à des concentrations élevées et extrêmes par différentes espèces de plantes. Il existe une variation interspécifique entre les endomycorhizes vis-à-vis la translocation des métaux vers la plante. La combinaison plante/champignons mycorhiziens la plus performante est le mélange végétal (*Festuca rubra*, *Festuca eliator*, *Agropyron repens*, et *Trifolium repens*) inoculé avec *Glomus intraradices*. L'extraction de Zn, Cd, As, et Se par la végétation colonisée par *G. intraradices* est généralement plus grande que dans celles non-colonisées, dépendamment de la concentration du métal dans le sol et s'il est en interaction avec d'autres métaux. L'effet d'une symbiose endomycorhizienne sur l'assimilation des métaux par les racines semble être spécifique au métal et à la plante. De plus, une colonisation mycorhizienne permet une plus grande densité de la longueur racinaire et plus d'hyphes permettant à la végétation d'explorer un volume de sol plus élevé et ainsi augmenter l'accès aux métaux.

L'extraction de cadmium par la végétation inoculée est plus élevée après 80 jours même si elle n'est pas toujours apparente dans la concentration de Cd dans les tissus. La concentration et la masse de zinc extraite par les plantes colonisées sont généralement plus grandes à cause d'un pattern de translocation des racines aux pousses altéré par les endomycorhizes. L'assimilation et la translocation du Zn sont similaires au transport du phosphore. À des niveaux d'arsenic élevés dans le sol, la concentration et la masse d'As

extraite est supérieure dans les plantes inoculées probablement à cause d'un ATP'ase de translocation d'arsénite actif dans les endomycorhizes. Lorsqu'en interaction avec d'autres métaux dans le sol, le sélénium est extrait plus efficacement par la végétation colonisée. Mais avec le temps, le Se dans la végétation est perdu par volatilisation sous la forme diséléniure de diméthyle ($\text{CH}_3\text{SeSeCH}_3$).

Pour les quatre métaux lourds (Cd, Zn, As, et Se), il existe une corrélation linéaire positive entre les concentrations de métaux dans la végétation par rapport au sol. Lorsque les teneurs dans le sol sont élevées par un facteur 10, celles dans les tissus végétaux sont aussi haussées de 10, pour les deux traitements mycorhize et contrôle sans mycorhize.

De plus, l'extraction des métaux atteint un plateau après une période d'environ deux mois et peut probablement ensuite diminuer légèrement à cause soit de phytovolatilisation (As et Se) ou soit de nécroses des feuilles (Zn) causées par des niveaux de métaux lourds élevés. Cette observation suggère que les graminées pérennes colonisées par *G. intraradices* devraient être récoltées après une période de deux mois permettant 2 à 3 récoltes dans les latitudes canadiennes. De cette manière, la phytorestauration peut être accélérée 2 à 3 fois.

Les mécanismes d'action par les racines mycorhizées vis à vis de l'absorption des métaux lourds ont été déterminés. Les métaux lourds essentiel (zinc) et non-essentiel (cadmium) sont séquestrés et transférés aux racines via les hyphes endomycorhiziens. Le facteur d'accumulation racine/milieu M atteint 5:1 et 18:1 pour le Zn et le Cd, respectivement. L'assimilation et la translocation du Zn par les hyphes sont connues être semblables au transport du P. Tandis que le Cd pénètre les hyphes via les systèmes de transport du Mn^{2+} et du Zn^{+2} .

Les mécanismes d'action par les racines colonisées vis à vis la spéciation des métaux lourds ont aussi été étudiés. Les résultats montrent qu'en présence de métaux lourds dans une forme non disponible aux plantes, les hyphes endomycorhiziens peuvent changer le métal d'une forme carbonatée à une espèce soluble dans l'eau. Ce phénomène est observé autant avec les métaux non-essentiels (Cd) qu'essentiels (Zn). Les hyphes sécrètent des acides organiques, citrique et oxalique, qui solubilisent les métaux. Une saturation en Zn est atteinte dans les racines colonisées par *G. intraradices* à environ 400ppm, indépendamment des concentrations initiales de ZnCO_3 . La saturation en Cd n'est pas atteinte; dans le traitement faible en Cd, le ratio de métal plante/milieu M est 3:1 et dans le traitement élevé, le ratio est 1:1.

Différents modes de disposition des plantes récoltées (compostage, incinération, recyclage des métaux) ont été testés. Le compostage de végétation issue de la phytorestauration d'un sol contaminé par As, Cd, Se et Zn a été réalisé sur une échelle pilote. Le compost final est en dessous des critères C2 fixés par le Guide de valorisation des matières fertilisantes (MDDEP, 2004) pour tous les métaux. Un compost de catégorie C2 n'a pas de restriction quant à son utilisation sauf une limite de charge des résidus de 22 tonnes (b.s.)/ ha / 5ans. Il pourrait servir de recouvrement sur des terrains pauvres et peu fertiles.

Il est aussi possible, après incinération des plantes récoltées à basse température (500°C), de recycler les métaux concentrés dans les cendres par des techniques de chélation ou en les acheminant vers les fours des fonderies de métaux à titre de minerai.

L'inconvénient majeur de la phytorestauration est le temps nécessaire pour rendre un site propre. Elle s'appliquerait bien sur des sites dits « brownfields » ou « orphelins » comme c'est le cas de grandes villes (Montréal, Toronto, Ottawa, etc.). En effet, ces terrains contaminés sont souvent récupérés de faillites par les villes. Ils sont vacants et sont la plupart du temps recouvert de végétation. Des règlements municipaux obligent de

couper la végétation régulièrement pendant la saison de croissance. Il faudrait que les villes investissent des frais minimaux supplémentaires pour ramasser et disposer de cette végétation en dehors du site soit par compostage ou par incinération et recyclage des métaux. Ainsi, ces nombreux terrains contaminés seraient réhabilités par les plantes et pourraient être revendus. Les villes en sortiraient gagnantes.

Les sites autour des mines et des fonderies sont également propices à la phytorestauration. En effet, ces terrains couvrent souvent plusieurs centaines d'hectares et leur réhabilitation par excavation et enfouissement est trop onéreuse, variant de 1 à 4M\$ pour des sites inférieurs à 1 ha. Il est plutôt suggéré de semer des espèces de graminées (*Festuca rubra*, *Festuca eliator*, et *Agropyron repens*) et de légumineuses (*Trifolium repens*) en y ajoutant des endomycorhizes, notamment le *Glomus intraradices* qui a été très efficace pour l'extraction des métaux lourds. Ces sites ont suffisamment d'espace pour que la végétation récoltée à chaque année soit compostée directement sur les lieux. Le compost mature peut alors servir de recouvrement sur les parcs à résidus et les haldes de stériles. L'incinération est aussi une autre avenue pour disposer et recycler les métaux lourds de la végétation récoltée.

RÉFÉRENCES

MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, DE L'ENVIRONNEMENT ET DES PARCS (MDDEP). 2004. Guide sur la valorisation des matières résiduelles fertilisantes. Critères de référence et normes réglementaires. Gouvernement du Québec, Québec. 138 p. Site internet : http://www.mddep.gouv.qc.ca/matieres/mat_res/fertilisantes/critere/guide-mrf.pdf.

ANNEXE 1

TAUX D'ASSIMILATION DES CONTAMINANTS ET TEMPS DE PHYTORESTAURATION

PHILIPPE GIASSON

Département des Sciences de la Terre et de l'Atmosphère, Université du
Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec,
Canada, H3P 3P8.

Il est possible d'estimer le taux d'assimilation des métaux lourds. Les cinétiques de premier ordre peuvent être assumées comme une approximation de la durée nécessaire pour atteindre les objectifs de décontamination. Le taux d'assimilation doit être divisé par la masse de contaminants restant dans le sol (Schnoor, 1997) :

$$k = A/M_o \quad (1)$$

où k = constante du taux de premier ordre pour l'assimilation, année⁻¹

A = taux d'assimilation du contaminant, kg/année

M_o = masse initiale du contaminant, kg

Ensuite, une estimation de la masse restante à n'importe quel moment est exprimée par l'équation (2) suivante :

$$M = M_o e^{-kt} \quad (2)$$

où M = masse restante, kg

t = temps, année

Le temps requis pour achever la restauration à un niveau connu peut être résolu comme suit :

$$t = -(\ln M/M_o)/k \quad (3)$$

où t = temps requis pour la restauration à un niveau de décontamination, année

M = masse allouée au niveau de restauration, kg

M_o = masse initiale du contaminant, kg

Exemple de calcul de temps de phytorestauration :

Le site utilisé pour les essais de phytorestauration était contaminé notamment avec 30 ppm de cadmium sur une profondeur de 15 cm. La végétation récoltée contenait en moyenne 22 ppm de Cd et il est possible d'effectuer un minimum de 2 récoltes de 18 tonnes par ha par année. La concentration maximale de Cd dans le sol pour permettre

une utilisation industrielle est 20 ppm, i.e. inférieur au critère de l'annexe 2 du Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains du Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec (MDDEP, 2003) :

Solution :

$$A = (22 \text{ mg/kg}) (18000 \text{ kg/ha}) (2 \text{ récoltes/an})$$

$$A = 792000 \text{ mg/ha/an} = 0.792 \text{ kg/ha/an}$$

$$M_o = (30 \text{ mg/kg}) (0.15 \text{ m}) (10000 \text{ m}^2/\text{ha}) (1000 \text{ L/m}^3) (1 \text{ kg/L})$$

$$M_o = 45000000 \text{ mg/ha} = 45 \text{ kg/ha}$$

$$M = (20 \text{ mg/kg}) (0.15 \text{ m}) (10000 \text{ m}^2/\text{ha}) (1000 \text{ L/m}^3) (1 \text{ kg/L})$$

$$M = 30 \text{ kg/ha}$$

$$k = A/M_o \tag{1}$$

$$k = (0.792 \text{ kg/ha/an}) / (45 \text{ kg/ha}) = 0.0176 \text{ an}^{-1}$$

$$t = -(\ln M/M_o)/k \tag{3}$$

$$t = -(\ln (30 \text{ kg/ha})/(45 \text{ kg/ha}))/ 0.0176 \text{ an}^{-1}$$

$$t = \text{maximum de 23 années}$$

Mais dans ce cas-ci, on peut assumer que les cinétiques sont d'ordre zéro (taux d'assimilation de Cd constant chaque année) comme montré dans l'équation (4), puisque qu'une colonisation mycorhizienne, tel que démontré dans les chapitres 2 et 3, permet une plus grande densité de longueur racinaire permettant à la végétation d'explorer un volume de sol plus élevé, et permet plus d'hyphes qui sécrètent des acides citriques et oxaliques augmentant la solubilisation des cations métalliques même sous la forme carbonatée.

$$t = (M_o - M) / A \quad (4)$$

$$t = (45 \text{ kg/ha} - 30 \text{ kg/ha}) / 0.792 \text{ kg/ha/an}$$

t = maximum de 19 années

Le temps de réhabilitation peut même être inférieur à 19 années si dans un premier il est possible d'effectuer un troisième récolte par année, car un plateau d'accumulation des métaux par la végétation est atteint autour de 10 semaines, tel que vu au chapitre 1. Deuxièmement, si des techniques de labour sont utilisées pour défaire les zones plus contaminées et pour les uniformiser sur tout le site, le temps de réhabilitation peut être raccourci.

RÉFÉRENCES

- MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, DE L'ENVIRONNEMENT ET DES PARCS (MDDEP). 2003. Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains. Gouvernement du Québec, Québec. Site internet: <http://www.mddep.gouv.qc.ca/communiqués/2003/c030226-reg-terrains.pdf>.
- SCHNOOR, J.L. 1997. Phytoremediation. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center (GWRTAC), Pittsburgh, PA, Technology Evaluation Report, E Series: TE-98-01. 37 p.

ANNEXE 2

ORIGINE ET SPÉCIATION DES MÉTAUX LOURDS DANS LES SOLS

PHILIPPE GIASSON

**Département des Sciences de la Terre et de l'Atmosphère, Université du
Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec,
Canada, H3P 3P8.**

Avant d'étudier la disponibilité des métaux lourds pour la végétation dans une optique de phytorestauration, il importe de connaître leur origine et leur spéciation dans les sols.

1. Sources des métaux lourds dans les sols

Il y a deux sources de métaux lourds dans les sols: la météorisation des matériaux parentaux et les nombreuses sources de contamination externes.

1.1 Matériaux parentaux

Comme conséquence de la météorisation, les métaux lourds présents naturellement dans le matériel parental se libèrent dans le sol. En raison de la petite taille des particules et des réactions chimiques, comme l'oxydation et la réduction, qui deviennent possibles pour les métaux lourds maintenant accessibles, il y a une chance que ces métaux lourds soient retenus ou transportés dépendant de leur solubilité. Ainsi, les concentrations en métaux lourds dans les sols ne reflètent pas toujours les concentrations retrouvées dans le matériel parental sous-jacent.

1.1.1 Arsenic (As)

L'arsenic se retrouve dans plusieurs minéraux (> 200) dans la croûte terrestre, et environ 60% de ceux-ci sont des arsénates (AsO_4) (Fergusson, 1990). L'arsenic est présent dans tous les sols, avec de grandes concentrations dans les sols développés sur des roches sédimentaires comme les shales, les sédiments argileux et les quartz-micas-schistes. De plus, dans certains sols brésiliens, on mesure de fortes teneurs dans des sols bien météorisés ayant la gibbsite comme minéral dominant. On retrouve une grande gamme de teneurs en arsenic dans les sols. Il semble que la concentration moyenne pour un sol non contaminé est autour de $5\text{--}10 \mu\text{g g}^{-1}$, une moyenne mondiale de $11.3 \mu\text{g g}^{-1}$ pour

1193 sols. Au Canada, la gamme de teneurs en arsenic est la plus faible dans les luvisols ($0.8-6.2 \mu\text{g g}^{-1}$), suivi par les chernozem ($3.5-6.9 \mu\text{g g}^{-1}$), les histosols ($1.8-66.5 \mu\text{g g}^{-1}$), et les horizons supérieurs ($1.1-16.7 \mu\text{g g}^{-1}$) (Fergusson, 1990).

1.1.2 Cadmium (Cd)

La teneur moyenne du Cd dans la croûte continentale est de 0.098 ppm. Son temps de résidence dans l'océan est de 790 000 ans. Les sources géologiques les plus abondantes pour le Cd sont la sphalérite $[(\text{Zn},\text{Cd})\text{S}]$ et la smithsonite $[(\text{Zn},\text{Cd})\text{CO}_3]$ pour lesquels le Cd s'est substitué en partie pour le Zn. Les sols dérivés de roches ignées contiennent moins de Cd (0.1-0.3 ppm) que ceux des roches métamorphiques (0.1-1.0 ppm) et encore moins que ceux des roches sédimentaires (0.3-11 ppm), notamment les shales. En général, les sols organiques contiennent le plus de Cd, probablement à cause de l'adsorption du métal par la matière organique (Alloway, 1990).

1.1.3 Chrome (Cr)

Le Cr est le septième plus abondant élément, sa teneur moyenne dans la croûte continentale est de 190 ppm. Le temps de séjour du Cr dans l'océan est de 1600 ans. Il est trouvé dans les roches ignées comme substitut au Fe. Les roches mafiques et ultramafiques sont les plus riches en Cr; elles en contiennent jusqu'à 3400ppm, notamment sous forme de chromite (FeCr_2O_4). Au Québec, la construction d'une usine de ferro-chrome a déjà été envisagée en Estrie pour l'extraction du Cr de la chromite (teneur du minerai 5-50%). Les sols formés sur de la serpentine contiennent des concentrations inhabituellement élevées en Cr. Dans les sols du Royaume-Uni, une moyenne géométrique des concentrations en Cr était de 34 ppm. De plus, l'érosion éolienne des sols et l'activité volcanique sont deux sources importantes d'émissions de particules de Cr dans l'atmosphère (McGrath et Smith, 1990).

1.1.4 Cuivre (Cu)

Le Cu est un des éléments essentiels importants pour les plantes et les animaux. Après le Zn, le Cu est le 26^e élément le plus abondant, sa teneur moyenne est de 75 ppm dans la lithosphère, et de 30 ppm dans les sols. Le temps de séjour du Cu dans l'océan est de 1000 ans. La chalcopryrite (CuFeS_2) est de loin le minéral de Cu le plus abondant. On trouve le Cu dans d'autres sulfures comme la chalcosite (Cu_2S) et la bornite (Cu_5FeS_4), dans des sulfosels comme la tétraédrite $[(\text{Cu},\text{Fe})_{12}\text{Sb}_4\text{S}_{13}]$, dans des oxydes comme la cuprite (Cu_2O), dans des carbonates comme la malachite $[(\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH}))_2]$ et l'azurite $[\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2]$, et enfin, dans des phosphates comme la turquoise $[\text{CuAl}_6(\text{PO}_4)_4(\text{OH})_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$. Au Québec, le Cu est extrait et fondu en Gaspésie et en Abitibi à partir de la chalcopryrite (teneur du minerai 5000-40000 ppm). De plus, une partie du minerai de Cu fondu au Québec est importée du Chili et d'ailleurs dans le monde. Le minerai est affiné à Montréal-Est (Landry et Mercier, 1992). Les teneurs les plus élevées en Cu sont dans les gabbros et les roches basaltiques (environ 90 ppm), et elles sont très faibles dans les roches granitiques et ultramafiques (environ 15 ppm). Les concentrations typiques totales de Cu dans les sols organiques varient de 15-40 ppm et dans les podzols elles varient de 2 à 10 ppm. Dans les gleysols sur roches argileuses, les teneurs en Cu fluctuent de 10 à 27 ppm, tandis que dans les gleysols sur shales elles sont d'environ 40 ppm (Baker, D.E., 1990).

1.1.5 Nickel (Ni)

Le Ni est le 24^e plus abondant élément; sa concentration moyenne dans la croûte terrestre est de 110 ppm. Le temps de séjour du Ni dans l'océan est de 1600 ans. Le Ni se trouve surtout sous la forme minérale pentlandite $(\text{Ni},\text{Fe})_9\text{S}_8$, il se substitue aussi au Fe dans d'autres formation de sulfures comme la pyrite $[(\text{Ni},\text{Fe})\text{S}_2]$. Au Québec, le Ni est extrait en Abitibi, dans l'Outaouais, en Mauricie, et dans l'Ungava à partir de la pentlandite (teneur du minerai 0.3-5.0%), il est fondu et affiné à Sudbury en Ontario

(Landry et Mercier, 1992). Le Ni est un élément sidérophile qui est très riche dans les roches ultramafiques, où le Ni^{2+} se substitue au Mg^{2+} et au Fe^{2+} , notamment dans la péridotite, la dunite et la pyroxénite. Le Ni est aussi présent dans les roches mafiques (gabbro et basalte). Les roches ignées riches en minéraux ferromagnésiens et sulfureux sont aussi riches en Ni, par exemple la pyroxène, l'olivine, la biotite et la chlorite. Les roches alcalines et les roches sédimentaires sont plutôt pauvres en Ni. Les Ni-silicates, particulièrement la garniérite $(\text{Ni,Mg})_6\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$, un silicate magnésien hydroxyle, sont des sources importantes de Ni. Les argiles latéritiques sont un autre groupe de minéraux contenant du Ni formé après une météorisation prolongée de péridotite ultrabasiq. La concentration moyenne de Ni dans les sols est de 40 ppm. Cette teneur varie beaucoup selon le type de matériau parental. Dans certains sols, le Ni peut s'accumuler dans l'horizon B sous forme oxydée, ou il peut s'accumuler dans la litière et l'humus de surface. L'érosion éolienne du sol, l'activité volcanique, les feux de forêt, les poussières météoriques et le sel marin sont les principales sources atmosphériques de Ni (McGrath et Smith, 1990).

1.1.6 Plomb (Pb)

La teneur moyenne du Pb dans la lithosphère est de 8 ppm. Le temps de résidence du Pb dans les sols est long comparativement à la plupart des autres polluants; son temps de séjour dans l'océan est de 5 ans. Le Pb est peu soluble, il tend à s'accumuler dans les sols et dans les sédiments argileux. Le Pb a une affinité très forte pour le soufre. Ainsi, dans les roches sédimentaires, les shales et les argilites ont des concentrations élevées en Pb (moyenne de 23 ppm) car elles sont riches en matières organiques et en soufre. Après météorisation, le soufre est oxydé et le plomb est libéré. Dans les roches cristallines, on retrouve des concentrations plus élevées dans les roches ignées acides (18 ppm) comparativement aux roches ultramafiques (1 ppm). Les teneurs en Pb tendent à croître avec les concentrations en silice. Les principales sources géologiques du Pb sont la galène (PbS), la cérusite PbCO_3 , l'anglésite PbSO_4 , et la wulfénite (PbMoO_4). Au

Québec, le Pb est extrait comme sous-produit des mines de zinc à partir de la galène (teneur du minéral 1-6%) en Outaouais, en Mauricie et en Gaspésie. Les concentrations moyennes de Pb dans des sols non-contaminés sont de 17 ppm. Comme la plupart des métaux lourds, le plomb est plus enrichi dans les sols organiques que les sols minéraux, et plus dans les sols argileux comme l'illite et la montmorillonite (Fergusson, 1990). Les fractions organiques du sol, comme l'humus, retiennent mieux le Pb (30 ppm) que les fractions minérales (13 ppm). Ainsi, il y a peu de lessivage du Pb vers les horizons inférieurs. Dans l'est du Canada, on a trouvé que les plus grandes accumulations de Pb se font dans les horizons de surface des podzols (Davies, 1990). Le plomb tend à être plus concentré dans les sols que dans le matériel parental, toutefois ces résultats doivent être pris avec précaution compte tenu de la grande étendue du plomb anthropogénique.

1.1.7 Sélénium (Se)

Les teneurs en sélénium dans les sols suivent souvent celles du zinc. Les concentrations sont plus fortes dans des sols écossais dérivés de l'andésite comme matériau parental. Dans les sols brésiliens, le sélénium est enrichi dans des sols météorisés avec la kaolinite comme minéral dominant. En général, le sélénium est enrichi dans les roches sédimentaires en raison de l'activité volcanique, ou dans les shales noirs. La distribution du sélénium dans les sols canadiens semble étroitement liée aux teneurs dans le matériau parental, sauf pour les sols podzoliques. Les concentrations dans les sols dérivés dépendent aussi de la solubilité relative des composés de sélénium et des conditions d'oxydoréduction (Fergusson, 1990).

1.1.8 Zinc (Zn)

Dans la lithosphère, on trouve en moyenne 80 ppm de Zn, et le temps de séjour du Zn dans l'océan est de 1300 ans. Les éruptions volcaniques et les poussières éoliennes sont des sources naturelles qui contribuent à la pollution au Zn. Le Zn se rencontre dans différents minéraux, notamment la zincite (ZnO), la smithsonite (ZnCO_3), et la sphalérite $[(\text{Zn},\text{Fe})\text{S}]$. Au Québec, le Zn est extrait en Abitibi, en Gaspésie, en Mauricie et dans l'Outaouais à partir de la sphalérite (teneur 60-67%). Il est affiné à Valleyfield, au sud-ouest de Montréal (Landry et Mercier, 1992). Le Zn est distribué uniformément dans les roches magmatiques. Les roches basaltiques sont plus riches en Zn (100 ppm) que les roches acides (granitiques) (40 ppm). Dans les roches sédimentaires, les teneurs en Zn sont plus élevées dans les shales (100 ppm) que dans les grès ou les calcaires (20 ppm). La teneur moyenne de Zn dans les sols est de 50 ppm. Les sols alluvionnaires sont les plus riches en Zn (125 ppm), et les sols légèrement organiques en sont pauvre (17 ppm).

1.2 Contamination externe

Les sources anthropiques de métaux lourds dans les sols sont soit de sources primaires, i.e. les métaux sont ajoutés aux sols en tant que résidus du travail du sol, comme la fertilisation, ou soit de sources secondaires où les métaux sont ajoutés au sol en tant que conséquences d'une activité environnante telles les fonderies et les dépositions d'aérosols. Le plomb, le cadmium et l'arsenic sont les principaux polluants métalliques ajoutés aux sols, suivis par le sélénium et le mercure (Fergusson, 1990).

2. Spéciation des métaux lourds dans les sols

La chimie des éléments lourds dans le sol est importante notamment pour déterminer la disponibilité des ces éléments pour les plantes. Il est utile de savoir la spéciation des métaux, leur solubilité, leurs caractéristiques d'adsorption et désorption en rapport aux composantes du sol comme les argiles et la matière organique, les variations en raison des changements de pH et de E_h du sol et de la disponibilité chimique et biochimique des éléments (Fergusson, 1990).

2.1 Arsenic

On retrouve l'arsenic dans les sols surtout comme arséniate, AsO_4^{3-} , en conditions oxydantes. Cette espèce est fortement, et parfois irréversiblement, adsorbée sur les argiles, les oxydes/hydroxydes de fer et manganèse et la matière organique. La quantité adsorbée est relative à la concentration d'arsenic, au temps et aux teneurs en fer et manganèse dans le sol. Dans les sols acides, les principales formes d'arsenic sont les arsénates d'aluminium et de fer AlAsO_4 et FeAsO_4 , et dans les sols alcalins et calcaires, la principale forme est $\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$. Les constantes de produit de solubilité ($\log K_{sp}$) des trois composés sont: -15.8, -20.2, et -18.2 respectivement, mais en raison de leur stoechiométrie, les arsénates d'aluminium et de fer sont moins solubles que l'arséniate de calcium (Fergusson, 1990).

L'adsorption de l'arséniate aux composantes du sol est semblable à celle du phosphore à cause de leurs propriétés chimiques similaires. L'extraction des composants amorphes de fer et d'aluminium des sols réduit de façon marquée l'adsorption de l'arséniate (Fergusson, 1990).

La mobilité de l'arsenic dans les sols est rehaussée en conditions réductrices, comme dans les sols inondés, en raison d'une proportion plus grande d'arsénite (As(III)). On estime les sels d'arsénite être 5 à 10 fois plus solubles que les arsénates correspondants. Malheureusement, As(III) est à la fois la forme la plus disponible et la plus toxique de l'élément. Une hausse du pH, par exemple en chaulant, augmente aussi la mobilité de l'arsenic, probablement en causant un changement des arsénates d'aluminium et de fer en arsénate de calcium (Fergusson, 1990).

Les bactéries sont aussi importantes dans la chimie de l'arsenic dans le sol par la méthylation, donnant des dérivés de méthyle As(III) (Fergusson, 1990)..

2.2 Cadmium

Les concentrations et la spéciation de métaux comme le cadmium dans la solution du sol dépendent partiellement de la concentration de ligands dans la solution du sol et des constantes de stabilité des complexes ligand-métal. Les principales espèces chimiques de Cd dans les solutions de sols oxydants sont (en ordre décroissant): Cd(II) , $\text{CdSO}_4(0)$ et CdCl^+ dans les sols acides, et Cd(II) , CdCl^+ , $\text{CdSO}_4(0)$ et CdHCO_3^+ dans les sols alcalins (Alloway, 1990). On retrouve aussi en conditions oxydantes les formes CdO , CdCO_3 et $\text{Cd}_3(\text{PO}_4)_2$. En conditions réductrices ($E_h \leq -0.2$), CdS est la forme principale (Fergusson, 1990). Les formes oxyanion existent principalement à pH élevé, et à pH plus faible, l'espèce mobile dominante est Cd^{2+} . Le pH est le facteur le plus important dans le sol quant à la spéciation et la mobilité du Cd dans les sols. Dans les sols acides, la mobilité et la disponibilité du Cd sont contrôlées par la matière organique et par les hydroxydes de Al, Fe et Mn dans le sol. Dans les sols à pH élevé (notamment les sols calcaires ou traités avec de la chaux), le facteur contrôlant est la précipitation du Cd (ex. CdCO_3) tant que le produit de solubilité est dépassé. Dans les sols à teneurs élevées en soufre, on retrouve les formes Cd chlorées lesquelles vont hausser la mobilité du métal.

L'adsorption est plus importante que la solubilité comme déterminer la mobilité du Cd, notamment pour de faibles teneurs du métal. Les facteurs qui influencent l'adsorption sont: le pH, la force ionique, les cations compétitionnant, et les constituants du sol. L'adsorption relative selon les constituants est approximativement: hydroxydes de Fe et Al > kaolinite, acides humiques > montmorillonite (Fergusson, 1990).

Généralement, une grande proportion du Cd dans le sol est sous forme échangeable (20-40%). Les autres formes majeures sont la phase carbonatée (20%), et associé aux hydroxydes de Fe et Mn (20%). L'association du Cd avec la matière organique semble moins importante et elle dépend de la teneur en matière organique dans le sol (Fergusson, 1990).

Dans les sols pollués, Alloway (1990) a trouvé que l'ion Cd^{2+} prédominait, avec des espèces neutres comme CdSO_4 ou CdCl_2 , présentes en quantités élevées lorsque le pH est supérieur à 6.5.

2.3 Chrome

Le chrome peut exister sous plusieurs états d'oxydation dans le sol, mais les formes les plus stables et les plus communes sont Cr(III) et Cr(VI). Ces deux espèces ont des propriétés chimiques contrastantes: Cr(VI) existe comme anion, il est plus facilement extractible des particules de sols et de sédiments et il est considéré comme la forme la plus toxique. Le chromate est en équilibre dépendant du pH avec d'autres formes de Cr(VI) comme HCrO_4^- et de dichromates ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), et avec la forme prédominante CrO_4^{2-} à un $\text{pH} > 6$. Chrome(III) d'un autre côté, est beaucoup moins mobile et s'adsorbe plus fortement aux particules. La solubilité de Cr(III) décroît lorsque le $\text{pH} > 4$, et précipite complètement quand le $\text{pH} > 5.5$ (McGrath et Smith, 1990).

Chrome(VI) est la forme la plus stable en équilibre avec l'oxygène atmosphérique. Toutefois, Cr(VI), avec son fort potentiel positif de réduction, est une espèce très oxydante, et en présence de matière organique, Cr(VI) est réduit en Cr(III). La réduction est plus rapide dans les sols acides que alcalins. Ainsi, dans la majorité des sols, la forme Cr(III) relativement insoluble et moins mobile prédomine et existe généralement comme oxydes et hydroxydes insolubles. Toutefois, le fait de complexer Cr(III) avec des acides organiques solubles (ex. acide citrique, DTPA, et acides fulviques) maintient Cr(III) en solution au dessus du pH auquel le Cr non-complxe précipite et ainsi augmente sa mobilité (McGrath et Smith, 1990).

2.4 Cuivre

Les produits de solubilité les plus importants pour le cuivre dans le sol sont pour les composés suivants: $\text{Cu}(\text{OH})_2$, $\text{Cu}_2\text{P}_2\text{O}_7$, CuCO_3 , et CuS . Les sites d'adsorption les plus fréquents pour le Cu sont: les oxydes de Fe et Mn, la matière organique, les sulfures, et les carbonates, et ceux moins importants sont les phosphates, les sels de Fe, et les minéraux alumino-silicatés (Nriagu, 1979).

Plus de 98% du cuivre en solution dans le sol est complexé avec la matière organique. Le Cu est lié plus fortement à la matière organique que les autres cations d'éléments traces, et les complexes de Cu organique jouent un rôle important dans la régulation de la mobilité et la disponibilité dans le sol (Nriagu, 1979).

Dans la solution aqueuse de sols acides, l'espèce $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ est prédominante. L'espèce Cu(I) est plus stable dans des solutions aqueuses contenant des excès d'ions halites, d'acétonitrile, de pyridine, et d'ions cyanures. Lorsque le pH est plus élevé, différentes formes de Cu sont contenues dans l'eau du sol, incluant CuSO_4^0 , $\text{Cu}(\text{OH})_2^0$, CuCO_3^0 , Cu^+ , CuCl^0 , $\text{Cu}(\text{Cl}_2)^-$, et plusieurs complexes organiques du Cu (Baker, 1990).

2.5 Nickel

En se basant sur des modèles de stabilité thermodynamique, NiFe_2O_4 est la forme solide qui a le plus de chance de précipiter dans les sols. Lorsque le sol est acide et réducteur, les sulfures de Ni ont probablement le contrôle sur la concentration de nNi dans la solution du sol. À un $\text{pH} > 8$, le complexe hydroxyde $\text{Ni}(\text{OH})^+$ et l'ion Ni^{2+} sont les espèces les plus fréquentes, mais en conditions acides Ni^{2+} , NiSO_4^0 et NiHPO_4 sont importants quoique les proportions relatives de chacune dépendent des concentrations de SO_4^{2-} et PO_4^{3-} . En conditions oxydantes, dans les sols acides, les principales formes de Ni dans le sol sont Ni^{2+} , NiSO_4^0 , NiHCO_3^+ et les complexes organiques, et dans les sols alcalins, NiCO_3^0 , NiHCO_3^+ , Ni^{2+} et $\text{NiB}(\text{OH})_4^+$ (McGrath et Smith, 1990).

2.6 Plomb

Dans le sol, le Pb peut se retrouver: dans la solution du sol, adsorbé à la surface des complexes d'échange argile-humus, précipité, ou comme oxyde de Fe et de Mn et carbonates alcalino-terreux. Une très faible partie du Pb dans le sol se retrouve en solution (moins de 0.13% du total), si bien qu'il est très peu assimilable par la végétation.

Il existe deux états d'oxydation: Pb(II) et Pb(IV) qui sont stables. L'ion Pb^{2+} est la forme dominante du Pb dans l'environnement. Le pH et la CEC sont les principales propriétés impliquées dans l'immobilisation du Pb et la matière organique du sol est plus importante dans ce processus que la précipitation en carbonates ou l'adsorption par les hydroxydes (Davies, 1990).

La solubilité du Pb dans les sols non-calcaires est régulé par $\text{Pb}(\text{OH})_2$, $\text{Pb}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ et dans les sols calcaires PbCO_3 est dominant. Dans les sols acides, Pb est surtout sous forme cationique avec des complexations organiques. Dans les sols

calcaires, les complexes neutres sont dominants avec aussi des espèces de Pb cationique (Davies, 1990).

2.7 Sélénium

Le sélénium est essentiel pour les animaux mais il est aussi toxique en excès. L'accessibilité des formes de sélénium varient selon une hausse de E_h et de pH dans l'ordre suivant: sélénium(-II), séléniure HSe^- et Se^{2-} ; sélénium(0), Se, Sélénium(IV), sélénite $HSeO_3^-$ et SeO_3^{2-} ; et sélénium(VI), sélénate SeO_4^{2-} (Fergusson, 1990). L'accessibilité du sélénate augmente avec une hausse de pH. L'état d'oxydation divalent, sélénium(II), ne semble pas être présent dans les sols. La spéciation suggère que dans les gleysols, notamment à fortes teneurs en matière organique, les séléniures et les organo-séléniures sont présents. Dans les sols drainés (aérés), qui tendent vers un pH acide, les sélénites sont majoritaires, et dans les sols alcalins, on retrouve plutôt les sélénates. Les sélénites forment des composés très insolubles avec le fer comme $Fe(SeO_3)_3$ et $Fe(OH)_4SeO_3$, tandis que les sélénates dans les sols alcalins ne forment pas de tels composés insolubles. De plus, dans les sols acides à fortes teneurs en sélénium, l'élément est relativement immobile et non disponible aux plantes. Par ailleurs, dans les sols alcalins élevés en sélénium, il est plus mobile et disponible aux plantes. Dans les sols acides de Hawaï, où on retrouve des teneurs de 20 ppm de sélénium, l'élément n'est pas disponible aux plantes. Dans des sols alcalins, même avec de faibles teneurs en sélénium, les plantes, notamment les plantes accumulatrices *Astragalus* de la famille des légumineuses, peuvent concentrer de fortes doses de sélénium (1% poids sec) en raison de la forme plus soluble SeO_4^{2-} présente (Rosenfeld et Beath, 1964).

Les espèces sélénites semblent être plus fortement adsorbées aux oxydes de fer/manganèse, probablement à cause de la formation de sélénites de fer insolubles en surface de l'oxyde. L'ion sélénate est aussi fermement adsorbé aux oxydes de

fer/manganèse. L'ajout d'acide fulvique aux sols augmente la solubilité du sélénium dans l'eau mais pas sa disponibilité aux plantes, probablement en raison de l'interaction sélénium-acide fulvique (Fergusson, 1990).

Le sélénium est souvent associé au soufre autour des régions volcaniques et dans les roches et les sédiments. Les espèces de sélénium sont plus difficilement oxydées et sont moins mobiles que le soufre, elles sont donc moins facilement enlevées de l'environnement par météorisation (Fergusson, 1990).

On peut observer la biométhylation du sélénium dans les sols. La méthylation est accomplie par les micro-organismes dans les plantes, les champignons et les bactéries. Les espèces accumulatrices de sélénium *Astragalus* produisent du $(\text{CH}_3)_2\text{Se}$ lorsqu'exposées au sélénite. La biométhylation est augmentée par l'ajout de matière organique dans le sol (Fergusson, 1990).

2.8 Zinc

Les formes de Zn rencontrées dans la solution du sol sont les ions libres (Zn^{2+}) et les complexes organo-zinc. Dans la fraction colloïdale du sol, le Zn adsorbé et échangeable est associé aux particules d'argile, aux composés humiques, et aux hydroxydes de Fe et d'Al. Enfin, dans la fraction solide du sol, on trouve des minéraux secondaires et des complexes insolubles de Zn. Des précipités de Zn peuvent se former avec des hydroxydes, des carbonates, des phosphates, des sulfures, des molybdates et avec quelques autres anions incluant les humates, les fulvates et d'autres ligands organiques (Kiekens, 1990). Dans la plupart de ces réactions, le pH est un paramètre important. De ces complexes, les formes ZnSO_4^0 et ZnHPO_4^0 sont les plus importantes et elles contribuent significativement aux concentrations totales de Zn dans la solution. Dans des sols très acides ($\text{pH} < 4$), la concentration moyenne du Zn dans la solution du sol est de

7.14 ppm. Ainsi, la solubilité du Zn est inversement proportionnelle au pH. Lorsque le $\text{pH} < 7.7$, la forme Zn^{2+} domine, et la forme ZnOH^+ prévaut à un pH supérieur. Par contre, à des valeurs de $\text{pH} > 9.1$, les formes neutres Zn(OH)_2 sont prédominantes. Les interactions entre le Zn et les acides humiques sont grandement affectées par le pH, car la solubilité du Zn et des acides humiques est très dépendante du pH mais de façon opposée. En conditions acides, la majorité du Zn est soluble, tandis que les acides humiques sont insolubles. La zincite, la smithsonite et tous les minéraux Zn(OH)_2 sont environ 10^5 fois plus solubles que le Zn du sol. Ces sels sont de bons fertilisants en Zn lorsque appliqués autour des racines. Le mécanisme d'adsorption-désorption affecte aussi la solubilité du Zn dans le sol. Les argiles et la matière organique peuvent adsorber le Zn très fortement selon deux mécanismes d'adsorption différents: en conditions acides, selon les sites d'échanges cationiques, ou en conditions alcalines, selon la chemiosorption qui est grandement affectée par les ligands organiques. En effet, des expériences ont montré que le Zn était adsorbé plus fortement par les argiles et par la matière organique à des valeurs de pH alcalines. La fraction d'acide fulvique et les acides organiques de faible poids moléculaire forment principalement des complexes et des chélats avec le Zn, augmentant ainsi sa mobilité. De plus, à cause de leur nature colloïdale, les humates de Zn sont considérés comme des lieux de rétention pour le Zn (Kiekens, 1990).

RÉFÉRENCES

- ALLOWAY, B.J. (*Éditeur*). 1990. Heavy metals in soils. John Wiley & Sons, Inc., New-York. 339 p.
- BAKER, D.E. 1990. "Copper" in ALLOWAY, B.J. (*Éditeur*) Heavy metals in soils. John Wiley & Sons, Inc., New-York, pp.151-176.
- DAVIES, B.E. 1990. "Lead" in ALLOWAY, B.J. (*Éditeur*) Heavy metals in soils. John Wiley & Sons, Inc., New-York, pp. 177-196.
- FERGUSON, J.E. 1990. The heavy elements. Chemistry, environmental impact and health effects. Pergamon Press, Toronto, 614p.
- KIEKENS, L. 1990. "Zinc" in ALLOWAY, B.J. (*Éditeur*) Heavy metals in soils. John Wiley & Sons, Inc., New-York, pp. 261-279.
- LANDRY, B., et MERCIER, M. 1992. Notions de géologie. Modulo, Mont-Royal, Québec, 565 p.
- MCGRATH, S.P., et SMITH, S. 1990. "Chromium and nickel" in ALLOWAY, B.J. (*Éditeur*) Heavy metals in soils. John Wiley & Sons, Inc., New-York, pp. 125-150.
- NRIAGU, J.O. 1980. Zinc in the environment. Part I: Ecological cycling. John Wiley & Sons, Toronto.
- NRIAGU, J.O. 1979. Copper in the environment. Part I: Ecological cycling. John Wiley & Sons, Toronto.

ANNEXE 3

LA GÉOCHIMIE DES MÉTAUX LOURDS DANS LES SOLS CONTAMINÉS

PHILIPPE GLASSON

**Département des Sciences de la Terre et de l'Atmosphère, Université du
Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec,
Canada, H3P 3P8.**

Introduction

La météorisation ("weathering") implique des processus mécaniques - expansion de l'eau sous forme de glace, croissance des racines, expansion des minéraux causée par l'hydratation - et des processus chimiques - dissociation ionique, addition d'eau et de dioxyde de carbone, hydrolyse, oxydation, adsorption, et échange ionique. Dans cette annexe, seuls les processus chimiques seront étudiés mais tout en gardant en mémoire qu'ils ne sont qu'une partie du phénomène en entier.

Une complication sur les processus chimiques réside dans l'extrême lenteur de dégradation de la roche. La plupart des réactions de météorisation sont inertes, incomplètes et souvent irréversibles.

Tableau 6.1. Estimation du temps moyen requis pour météoriser 1 mm de roche fraîche en saprolite kaolinitique. (Krauskopf et Bird, 1995)

Rock Type	Climate	Time
Felsic	Tropical semi-arid	65 to 200 yrs.
	Tropical humid	20 to 70 yrs.
	Temperate humid	41 to 250 yrs.
	Cold humid	35 yrs.
Metamorphic	Temperate humid	33 yrs.
Mafic	Temperate humid	68 yrs.
	Tropical humid	40 yrs
Ultramafic	Tropical humid	21 to 35 yrs.

Estimer le temps de météorisation d'une roche n'est pas une tâche simple. Des observations de roches météorisées utilisées dans les édifices, les statues, et les pierres tombales peuvent donner des indications du taux de météorisation. Certaines études de terrain ont permis d'estimer le temps moyen requis pour météoriser 1 mm de roche en saprolite kaolinitique (Tableau 6.1). Un saprolite, ou régolite ou manteau résiduel, se

définit comme des composés nouvellement formés (oxydes, hydroxydes, minéraux argileux, etc.) qui peuvent s'accumuler au site de météorisation avec des grains de minéraux non réagis (quartz, feldspaths, micas) et des morceaux de roches non décomposés (cailloux, galets, blocs) (Faure, 1991). Les estimations du Tableau 6.1 illustrent les échelles de temps approximatives impliquées en météorisation, et reflètent l'importance du climat et le type de roche comme facteurs déterminants dans les taux de météorisation.

Ainsi, la stabilité des minéraux formant le sol est dépendante des conditions climatiques et biotiques. Conséquemment, une liste des minéraux basée sur leur résistance à la météorisation ne pourrait être valide pour toutes les conditions. Toutefois, pour des conditions humides tempérées, la liste suivante est un ordre général de résistance à la météorisation de particules de la taille du sable et du silt dans quelques minéraux communs (Brady et Weil, 2002):

Quartz (plus résistant) > muscovite et feldspath-K > feldspath-Na et -Ca >
biotite, hornblend et augite > olivine > dolomie et calcite > gypse

Cet ordre serait légèrement changé selon le climat ou d'autres conditions environnementales. Dans tous les cas, cet ordre compte pour l'absence de gypse, de calcite et de dolomie dans les sols en milieux humides et pour la prédominance du quartz dans la fraction la plus grossière de la plupart des sols.

Tel que mentionné précédemment, les réactions chimiques sont très lentes et ces processus sont parfois incomplets. Ainsi, les connaissances sur la météorisation sont plutôt qualitatives que quantitatives. On ne peut décrire avec précision l'état de la roche à un moment particulier dans le passé ou prédire son état à un temps donné dans le futur. Dans ce travail sur la météorisation chimique, nous nous concentrerons sur les réactions

des roches et des minéraux avec l'air et l'eau à la surface ou proche de la surface de la terre.

1. Changements dans la composition de la roche

Le Tableau 6.2 nous montre les changements globaux dans la composition de roche neuve à travers différents stades de dégradation. Les concentrations des éléments sont exprimées en pourcentage de poids de leurs oxydes. Dans l'item autres ("others") on regroupe ensemble des concentrations mineures de TiO_2 , MnO , BaO , P_2O_5 , CO_2 , et S.

Tableau 6.2. Analyses de gneiss quartz-feldspath-biotite et de matériaux météorisés dérivés. (Krauskopf et Bird, 1995)

La colonne I donne l'analyse de l'échantillon de roche neuve, et les colonnes II, III, et IV donnent les analyses de matériaux météorisés. En général, le degré de météorisation augmente de II à IV, mais ce n'est pas assuré que le matériel d'origine soit précisément le même ou que IV représente un temps de météorisation plus long que II ou III.

Chemical composition (weight percent)				
	(I)	(II)	(III)	(IV)
SiO_2	71.54	68.09	70.30	55.07
Al_2O_3	14.62	17.31	18.34	26.14
Fe_2O_3	0.69	3.86	1.55	3.72
FeO	1.64	0.36	0.22	2.53
MgO	0.77	0.46	0.21	0.33
CaO	2.08	0.06	0.10	0.16
Na_2O	3.84	0.12	0.09	0.05
K_2O	3.92	3.48	2.47	0.14
H_2O	0.32	5.61	5.88	10.39
Others	0.65	0.56	0.54	0.58
Total	100.07	99.91	99.70	100.11

Approximate mineral composition (volume percent)				
Quartz	30	40	43	25
K-feldspar	19	18	13	1
Plagioclase	40	1	1	?
Biotite (+ chlorite)	7	Trace	Trace	0.2
Hornblende	1	None	None	Trace
Magnetite, ilmenite, secondary oxides	1.5	5	2	6
Kaolinite	None	36	40	66

Dans ce tableau, on remarque immédiatement la perte de certains constituants: notamment Na, Mg, et Ca, et un peu moins pour K et Si. Cet ordre de perte est commun pour plusieurs types de roches mais ce n'est pas universel. Pour savoir quel constituant va disparaître en premier, cela dépend de plusieurs facteurs comme la composition minéralogique, la texture de la roche, le climat, le drainage, la quantité d'exposition. Il est difficile de dire combien a été perdu, les analyses ne donnent que des quantités relatives de divers éléments présents à un stade de météorisation particulier.

Il est possible d'avoir des hausses et des baisses d'éléments. En d'autres mots, la météorisation peut impliquer la perte de certains éléments et le gain d'autres, la masse totale de la roche demeurant approximativement constante. Ou bien on peut retrouver un élément qui demeure non affecté par la météorisation et que tous les autres diminuent. Ou finalement, la météorisation peut amener une baisse pour tous les éléments, ceux diminuant le moins paraissent augmenter par rapport aux autres.

Dans ce contexte, on a remarqué que le pourcentage de poids de l'alumine (Al_2O_3) ne changeait guère durant la météorisation - une supposition qui semble raisonnable selon que Al_2O_3 dans les analyses de météorisation montrait les plus hautes augmentations apparentes, et que de tous les constituants de roches communs, Al est le moins abondant dans les eaux de surface (Krauskopf et Bird, 1995). Ainsi le Tableau 6.3 montre les calculs de gains et de pertes durant la météorisation. La supposition que l'aluminium est constant repose sur un terrain fragile, mais elle est justifiée en partie par le manque d'évidence que l'aluminium migre de façon extensive dans les formations de plusieurs types de veines et auréoles métamorphiques de contact.

Tableau 6.3. Calculs de gains et de pertes durant la météorisation. (Krauskopf et Bird, 1995)

Les colonnes I et II viennent du tableau 2 et donnent le pourcentage de poids, sauf que l'erreur analytique dans chacun a été distribuée de sorte que les totaux donnent 100.00. La colonne A donne les calculs de poids en grammes de chaque oxyde restant de la météorisation de 100 g de roche neuve, selon la supposition que Al_2O_3 est constant. La colonne B montre les gains et les pertes de différents oxydes en grammes, et la colonne C donne ces mêmes gains et pertes en pourcentage de la quantité originale.

	(I)	(II)	(A)	(B)	(C)
SiO_2	71.48	70.51	55.99	-15.49	-22
Al_2O_3	14.61	18.40	14.61	0	0
Fe_2O_3	0.69	1.55	1.23	+0.54	+78
FeO	1.64	0.22	0.17	-1.47	-90
MgO	0.77	0.21	0.17	-0.60	-78
CaO	2.08	0.10	0.08	-2.00	-96
Na_2O	3.84	0.09	0.07	-3.77	-98
K_2O	3.92	2.48	1.97	-1.95	-50
H_2O	0.32	5.90	4.68	+4.36	+1,360
Others	0.65	0.54	0.43	-0.22	-34
Total	100.00	100.00	79.40	-20.60	

2. Séquence d'altération de minéraux silicatés

La baisse rapide commune de Na, Ca, et Mg, la plus lente perte de K et Si, et la perte encore plus lente de Al et Fe telles qu'indiquées dans les Tableaux 6.2 et 6.3 reflètent la susceptibilité de différents minéraux à la météorisation. En général, les minéraux mafiques se dégradent plus rapidement que les minéraux felsiques, libérant Mg, Fe, et en plus petites quantités Ca et les alcalis. Fe est en grande partie immédiatement oxydé en oxyde Fe(III) insoluble, et demeure avec les matériaux météorisés au lieu d'être lessivé en solution.

Parmi les feldspaths, les plagioclases se météorisent plus rapidement que les feldspaths-K, et les plagioclases calciques plus vite que les plagioclases sodiques, ainsi libérant plus rapidement Ca et Na que K.

Lorsque les cations sont libérés, les cadres Al-Si-O des minéraux silicatés originaux sont en partie décomposés, et en partie reconstitués dans les structures de minéraux argileux, si bien que seule une partie de Si et une très petite partie de Al se retrouvent en solution. La partie inférieure du tableau 6.2 montre les changements typiques dans l'abondance modale des minéraux.

3. Agents de météorisation chimique

L'air chaud ne cause qu'une dégradation très lente de la roche. L'humidité accélère le processus énormément, parce que l'eau elle-même est un agent actif de météorisation et aussi parce que l'eau garde en solution, et ainsi en contact très étroit avec la surface rocheuse, diverses substances qui réagissent avec les minéraux de la roche. Les plus importantes de ces substances sont l'oxygène libre, le dioxyde de carbone, les acides organiques, et les acides nitriques.

L'oxygène libre est important dans la dégradation des roches contenant des substances oxydables, particulièrement le fer et le soufre. À des températures normales, les réactions impliquant l'oxygène libre sont lentes. L'eau accélère le processus d'oxydation, probablement en dissolvant d'infimes quantités de minéraux et autres matériaux. L'eau peut entrer dans la réaction elle-même, comme dans la formation d'hydrates, mais son rôle est principalement celui de catalyseur, simplement en fournissant un environnement favorable pour des processus qui seraient autrement très lents.

Le dioxyde de carbone favorise la dégradation essentiellement en formant des acides carboniques lorsqu'il se dissout dans l'eau. L'eau exposée à l'air est une solution diluée de cet acide.

Les eaux naturelles peuvent contenir des matériaux qui augmentent leur acidité. Par exemple, la matière humique dégradée des sols ajoute des substances à l'eau qui baissent son pH très souvent autour de 4.5 et même parfois en dessous de 4. Cette acidité est due à des concentrations anormales de CO_2 relâchée par la dégradation. L'acidité peut aussi être causée par de petites quantités d'acides organiques simples comme l'acide acétique CH_3COOH .

Les acides azotés HNO_3 et HNO_2 jouent aussi un rôle mineur dans la plupart des eaux naturelles. Ces acides viennent de la dégradation de la matière organique et de l'action des bactéries dans le sol, ou mis en solution dans les eaux de pluies d'oxydes d'azote formés durant les décharges électriques dans l'atmosphère. On peut retrouver également plus localement des acides de soufre H_2SO_3 et H_2SO_4 dans des régions à activités volcaniques qui peuvent baisser le pH parfois en dessous de 1. De nos jours, les pluies acides formées par des gaz azotés et sulfurés provenant des industries et des automobiles peuvent accélérer le taux de météorisation.

Les réactions de météorisation sont contrôlées en grande partie par la disponibilité de l'eau et la nature des gaz et des composantes acides dissous dans l'eau. Les variations dans les précipitations des différentes zones climatiques du globe sont importantes pour déterminer l'étendue et le type de réactions de météorisation.

La Figure 6.1 montre que les conditions qui contrôlent la météorisation dépendent non seulement du climat mais aussi de la géomorphologie du paysage.

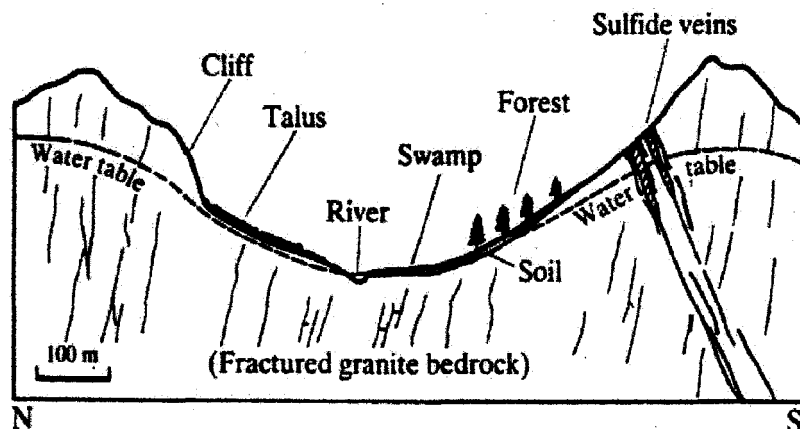
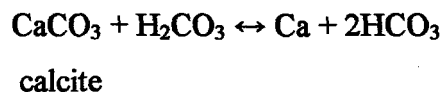


Figure 6.1. Coupe transversale d'une vallée glaciaire alpine illustrant les divers environnements de météorisation pouvant avoir lieu à une échelle locale. Le granite au nord de la rivière se météorise principalement par des processus mécaniques (gel), tandis que le granite proche de la rivière sous le marécage et sous le sol de la forêt se météorise par des processus chimiques accélérés par les acides organiques et azotés produits par la décomposition de la végétation et par les acides formés par la météorisation de veines de soufre sur la pente au côté sud de la vallée. (Krauskopf et Bird, 1995)

4. Dissolution des carbonates

La réaction principale dans la météorisation du calcaire est la suivante:



La constante d'équilibre de cette équation est 4.4×10^{-5} , ce qui signifie qu'une solution, en équilibre avec le CO_2 atmosphérique à 25°C et ne contenant pas de HCO_3^- sauf pour celui dérivé de la réaction elle-même, peut dissoudre la calcite à une concentration de Ca maximale de $5.0 \times 10^{-4} \text{ m}$. La quantité serait supérieure à des températures inférieures car le CO_2 pourrait se dissoudre, donnant ainsi des concentrations de H_2CO_3 plus élevées (Krauskopf et Bird, 1995).

En nature, la dissolution du calcaire en acide carbonique est remarquée par les surfaces irrégulières du calcaire, par l'élargissement de fentes dans le calcaire, et par les fortes concentrations de Ca (autour de 0.1 à 0.2m) dans les eaux souterraines de régions calcaireuses.

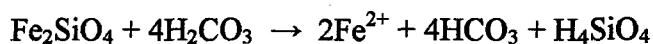
Malgré l'apparence de cette dissolution rapide, le calcaire forme souvent de très hautes falaises, essentiellement en régions arides. Ceci est probablement dû au fait que le calcaire est une roche dense, relativement imperméable dans laquelle l'eau ne pénètre pas facilement, si bien que la météorisation est restreinte aux surfaces exposées et aux fentes élargies.

5. Oxydation

Parmi les produits de météorisation, les oxydes de fer sont parmi les plus voyants à cause de leurs couleurs vives. Tous les oxydes de fer formés au contact de l'air sont des oxydes Fe(III). Ils incluent deux formes de composés anhydres Fe₂O₃ (l'hématite et l'oxyde magnétique moins commun maghémite) et au moins deux hydrates, goethite (HFeO₂) et lépidocrocite (FeOOH).

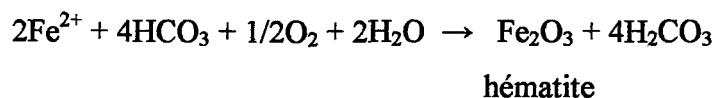
La couleur de l'oxyde simple est généralement rouge et celle des hydrates jaune à brune, mais la couleur n'est pas toujours représentative de la composition car elle dépend autant de l'état de subdivision et des impuretés mineures que du degré d'hydratation.

La météorisation des composés Fe(II) a probablement lieu en étapes, par exemple (Krauskopf et Bird, 1995):



Fayalite

Suivi de l'oxydation de Fe^{2+} :



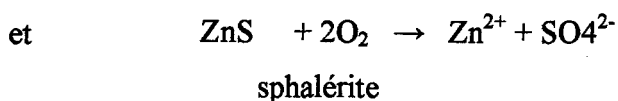
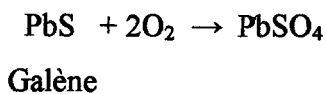
Ces deux étapes peuvent être largement séparées dans le cas où la dissolution du fer aurait lieu en conditions réductrices, comme à travers des solutions contenant ou en contact avec de la matière organique. La deuxième étape suivrait seulement lorsque la solution deviendrait en conditions oxydantes.

Le fait que l'équilibre soit déplacé vers la droite est le reflet de la grande stabilité et la grande insolubilité de l'oxyde Fe(III) . Cette substance est si stable que les autres composés Fe(III) en tant que produits de météorisation ne sont relativement pas communs. Localement, le phosphate (strengite), l'arséniate (scorodite), ou le sulfate basique (jarosite) de Fe(III) , formes légèrement solubles, peuvent apparaître, mais de façon sûre, la majeure partie du fer exposé à l'atmosphère se transforme éventuellement en oxyde Fe(III) sous une de ses formes multiples.

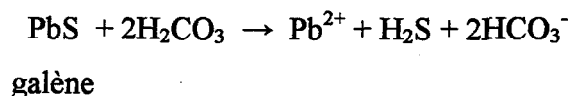
L'oxydation du manganèse se comporte sensiblement comme celle du fer. Les résultats de l'oxydation sont moins voyants car le manganèse est beaucoup moins abondant que le fer et ses produits d'oxydation sont bruns foncés et noirs plutôt que rouges vifs et jaune-bruns. Néanmoins, des films d'oxydes de manganèse sont très communs sur les parois de fentes et sur des surfaces rocheuses en régions désertiques.

Le soufre est un autre élément qui est oxydé durant la météorisation. Dans les roches ignées et dans les veines, cet élément apparaît surtout sous forme de sulfures, composés avec les métaux dans lesquels le soufre a un nombre d'oxydation typiquement de -2 ou -1. L'oxydation peut changer le nombre à n'importe quelle des quelques valeurs supérieures, mais l'équilibre au contact de l'air est atteint seulement lorsque le soufre

atteint l'état d'oxydation le plus élevé, +6, sous formes de sulfate. Les équations pour ce type de réactions sont (Krauskopf et Bird, 1995):



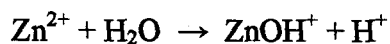
Ces réactions, comme celles avec le fer et le manganèse, sont extrêmement lentes ou nulles en l'absence d'eau. Le rôle de l'eau est probablement de fournir de l'acide carbonique pour dissoudre d'infimes quantités de sulfures:



après quoi, le sulfure d'hydrogène est oxydé:

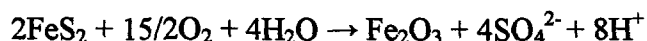


Les solutions résultant de l'oxydation des sulfures sont généralement acides à cause de l'hydrolyse de l'ion métallique dissout. Par exemple:



L'acidité dépend de la stabilité du complexe métal-hydroxyde. Pour les métaux qui forment des oxydes et des hydroxydes très insolubles, l'hydrolyse peut engendrer la précipitation du solide. Cette réaction est particulièrement importante, et l'acide résultant

est assez fort dans l'oxydation de la pyrite sulfurée FeS_2 . L'acidité élevée résulte de la formation de l'oxyde Fe(III) très insoluble:



Les résultats de cette réaction sont mis en évidence par l'émergence de veines pyritiques et de résidus miniers riches en soufre où les roches sont tachées par les oxydes et hydroxydes jaunes et bruns et où l'eau a un goût acide aigu.

Le soufre, le fer et le manganèse, en plus du carbone dans la matière organique, sont les seuls éléments communs dans les roches pour lesquels l'oxydation est une partie importante de la météorisation. Plusieurs des éléments moins communs, comme le cuivre, l'arsenic et l'uranium, sont oxydés lorsque leurs minéraux sont exposés à l'atmosphère.

6. Hydrolyse des silicates

La météorisation des silicates est d'abord un processus d'hydrolyse, un type de réaction eau-minéral qui produit un excès d'ions H^+ ou OH^- en solution. Comme exemple simple, le minéral forstérite (olivine riche en magnésium) s'hydrolyse selon l'équation (Krauskopf et Bird, 1995):



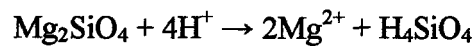
Forstérite

L'ion hydrogène de l'eau s'unit au groupe silicate pour former un acide silicique très faible. Plus communément en milieu naturel, le proton est fourni par l'acide carbonique:



Forstérite

Localement, si des acides plus forts que l'acide carbonique sont présents, comme près de veines contenant de la pyrite, la réaction est:



Forstérite

L'abondance des ions hydrogènes provoque la météorisation dans de tels endroits inhabituellement profond et inhabituellement complet.

L'influence du pH de la solution sur l'hydrolyse de l'olivine est illustrée sur la Figure 6.2. On note que les taux de dissolution sont nettement affectés par le pH, augmentant par presque un ordre de grandeur pour une baisse de pH d'une unité. La dissolution est strictement congruente, ce qui signifie que l'olivine libère ses éléments constitutants dans la solution dans des proportions conformes à sa stoechiométrie.

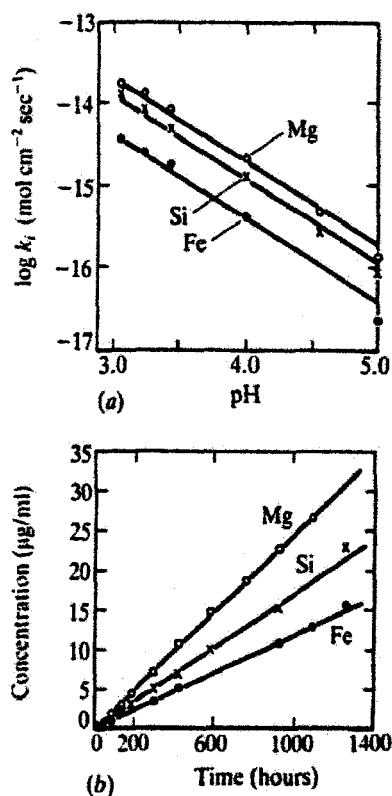
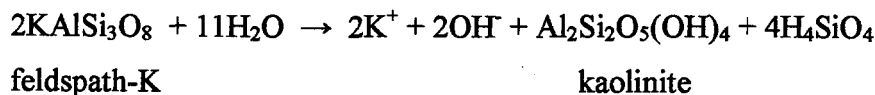


Figure 6.2. Résultats expérimentaux sur la dissolution de l'olivine forstérique provenant d'une plage de sable hawaïen dans une solution de 0.1M de KCl à 26°C. (Krauskopf et Bird, 1995)

(a) Taux de dissolution, mesuré en moles de Mg, Si, et Fe libérées par unité de surface (cm^2) d'olivine réagissant par seconde en fonction du pH de la solution. (b) Changements de concentrations de Mg, Si, et Fe durant la dissolution de 1g d'olivine dans une solution de 500ml avec un pH de 3.2 en fonction du temps. Les différentes pentes des droites en (b) sont proportionnelles à la stoechiométrie de l'olivine réagissant.

Le comportement d'hydrolyse des aluminosilicates est plus compliqué. La dissolution des feldspaths commence comme une réaction incongrue et ne devient congruente, dans des expériences laboratoires, qu'après quelques heures. Le taux de réaction augmente avec soit une hausse ou une baisse de pH par rapport à la neutralité. De plus, l'hydrolyse amène souvent à la formation de un ou plusieurs minéraux argileux, des composés dans lesquels une partie de l'aluminium et de la silice du minéral primaire reste combiné. Par

exemple, la météorisation du feldspath-K peut être symbolisée par l'équation (Krauskopf et Bird, 1995):



Dans cette équation, le minéral argileux représente la formule de la kaolinite. Cette équation décrit grossièrement le résultat global de la météorisation en milieu humide tempéré. La lente conversion finale du feldspath en kaolinite retrouvée dans les cristaux de feldspath partiellement décomposés se rencontre communément dans de minces sections de granite météorisé et à plus grande échelle dans les dépôts épais de l'argile chinoise commercialisée qui recouvre le granite et où la météorisation a été très en profondeur et de façon continue.

7. Processus de météorisation intégrés

Les processus de météorisation décrits précédemment ont lieu simultanément et sont interdépendants. Par exemple, l'hydrolyse d'un certain minéral peut libérer du fer ferreux qui s'oxyde rapidement pour former du fer ferrique (trivalent) qui, à son tour, est hydraté pour donner un oxyde hydraté de fer. L'hydrolyse peut aussi libérer des cations solubles, de l'acide silicique, et des composés d'aluminium ou de fer. Ces substances peuvent être recombinaées pour former des minéraux silicatés secondaires comme des argiles silicatées. De telles réactions sont illustrées de façon générale dans la Figure 6.3 qui montre comment un minéral silicaté primaire hypothétique est changé par la météorisation chimique.

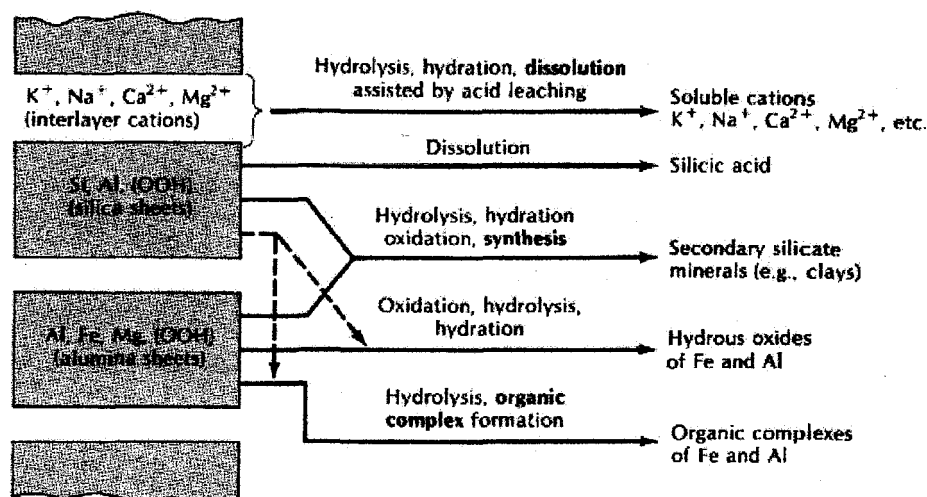


Figure 6.3. Illustration de la météorisation chimique d'un minéral silicaté hypothétique - K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe, Al, $Mg(OOH)$, Si, Al, (OOH) - montrant les multiples processus responsables de la météorisation. (Brady et Weil, 2002)

La Si, avec un peu de Al, et des ions O^{2-} et OH^- associés sont assumés être dans les feuillets 'silice'; le Fe, Al, et Mg et les ions O^{2-} et OH^- dans les feuillets 'alumine'; et les ions K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , et Mg^{2+} entre ces feuillets. La silice est enlevée par dissolution, formant de l'acide silicique, ou elle est combinée avec Al, Fe, et Mg dans les minéraux silicatés secondaires (argiles). Le fer peut être oxydé et, avec l'aluminium, hydraté pour former des oxydes hydratés ou des composés complexes organiques. À noter la dominance des réactions dépendantes de l'eau. Les argiles silicatées et les oxydes de fer et d'aluminium sont les minéraux secondaires formés comme produits de météorisation chimique. Les cations métalliques solubles, les complexes organiques de Fe et de Al, et même un composé de silice soluble sont les produits de ces réactions et sont sujets à être retirés du sol par lessivage.

8. Minéraux argileux

Les matériaux argileux sont caractérisés par la présence d'une proportion importante de particules fines dont la taille supérieure est généralement fixée à $2\ \mu m$. Cette fraction est constituée par des minéraux spécifiques dits argileux; mais on y trouve aussi des espèces dont les plus fréquentes sont la silice, des silicates non phylliteux, des oxydes, des hydroxydes cristallisés ou amorphes et des carbonates. Ces constituants ainsi que les minéraux argileux se présentent parfois sous forme de microcristaux isolés dans leurs

gisements naturels, mais aussi assez fréquemment agglomérés par des hydroxydes amorphes ou dissimulés dans des agrégats carbonatés (Caillère et al. 1982).

Les minéraux argileux sont des phyllosilicates. Ils ont une structure caractéristique formée de deux sortes de couches. Une couche (couche octaédrique) consiste des ions Al^{3+} , O^{2-} , et OH^- ; dans certaines argiles, le Al^{3+} est en partie remplacé par Mg^{2+} ou autres cations. Les ions négatifs forment un octaèdre autour de Al^{3+} (ou Mg^{2+}), les nombres relatifs de O^{2-} et OH^- sont ajustés pour satisfaire les valences de la structure. Les O^{2-} et OH^- sont partagés entre les octaèdres adjacents pour que la structure soit continue en deux dimensions (Figure 6.4). La deuxième couche (couche tétraédrique) est composée des ions Si^{4+} , O^{2-} , et OH^- ; chaque Si^{4+} est au centre d'un tétraèdre d'ions oxygènes; les tétraèdres pointent tous dans la même direction et les oxygènes à leur base sont liés pour former des anneaux hexagonaux (Figure 6.4). La structure complète des argiles consiste d'une des quelques combinaisons de couches octaédriques et tétraédriques possibles.

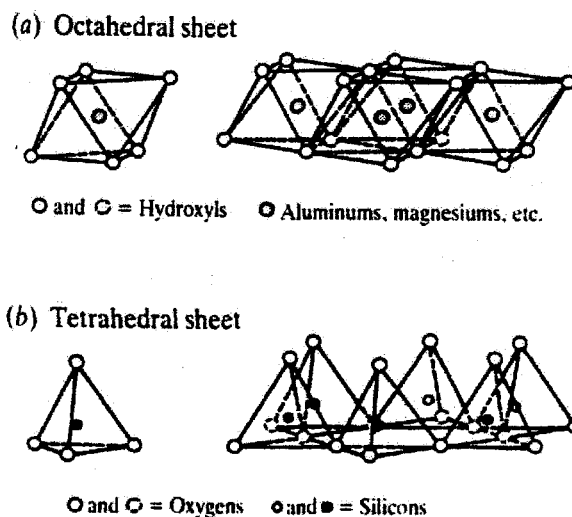


Figure 6.4. (a) Diagramme d'une couche octaédrique d'une structure de phyllosilicates. Le diagramme de gauche montre une unité octaédrique simple. Lorsque Al^{3+} occupe le centre de l'octaèdre, seulement le 2/3 des sites possibles sont occupés; lorsque Mg^{2+} occupe cette position, tous les sites sont occupés. (b) Diagramme d'une couche tétraédrique. Le diagramme de gauche montre une unité tétraédrique simple. (Krauskopf et Bird, 1995)

La plus simple combinaison de couches tétraédriques et octaédriques est la structure de la kaolinite. Elle possède une couche d'octaèdres liée avec une couche de tétraèdres en partageant quelques uns des ions oxygènes (Figure 6.5). La kaolinite a une structure dite asymétrique ou deux couches et se réfère au type 1:1 pour indiquer le ratio des couches tétraèdres sur octaèdres.

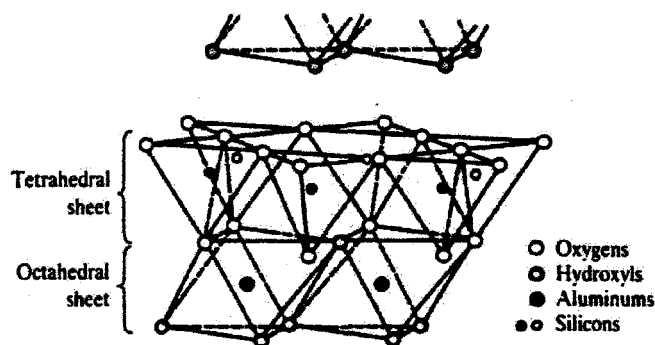


Figure 6.5. Diagramme de la relation des couches de tétraèdres et d'octaèdres de type 1:1. (Krauskopf et Bird, 1995)

La Figure 6.6 montre le pattern du groupe des smectites dont la montmorillonite est l'exemple le plus commun. L'octaèdre est pris en sandwich entre deux couches de tétraèdres. La smectite a une structure dite symétrique et se réfère au type 2:1 pour montrer l'emphase des couches de tétraèdres par rapport à la couche d'octaèdres.

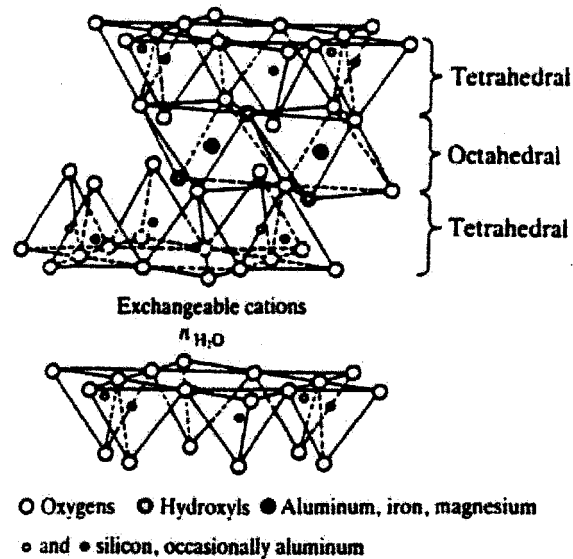


Figure 6.6. Diagramme de la structure de la montmorillonite montrant le type 2:1 avec deux couches de tétraèdres et une couche d'octaèdres au centre. (Krauskopf et Bird, 1995)

Très souvent dans les smectites, Si^{4+} et Al^{3+} sont remplacés par plusieurs autres ions de nombres de coordination 4 ou 6. Dans la couche tétraédrique, le Si^{4+} est remplacé par le Al^{3+} dans un maximum de 15% des sites. Dans la couche octaédrique, ce maximum peut atteindre 100% des sites. Les substituts les plus communs sont Mg^{2+} et Fe^{3+} et plus rarement Zn^{2+} , Ni^{2+} , Li^+ , et Cr^{3+} .

Le Tableau 6.4 montre les différents groupes de minéraux argileux. Parce que les couches de la smectite, ainsi que celle de la vermiculite qui lui est proche, sont facilement décollées, plusieurs ions peuvent s'infiltrer dans ces espaces interfoliaires, même de gros ions comme K^+ . L'eau aussi peut s'infiltrer entre ces couches, et la combinaison de l'eau avec les cations peuvent décoller les couches l'une de l'autre si bien que l'argile gonfle.

L'illite forme un troisième groupe majeur de minéraux argileux. L'illite a la structure de la smectite avec une abondance de K^+ interfoliaires. L'illite a une composition entre la smectite et la muscovite.

Tableau 6.4. Les différents groupes de minéraux argileux.

La charge des couches représente la variation typique en moles de l'excès de charge des électrons par unité de formule chimique du minéral argileux produite par substitutions isomorphiques. La formule de la smectite correspond à la montmorillonite. Les compositions de illite, vermiculite et chlorite illustrent les variations typiques dans la composition. (Sposito, 1989)

Group	Layer type	Layer charge	Typical chemical formula or range in composition
Kaolinite	1:1	<0.01	$Al_2Si_2O_5(OH)_4$
Illite	2:1	1.4–2.0	$K_{0.5-0.75}Al_2(Al_{0.5-0.75}Si_{3.25-3.5}O_{10})(OH)_2$
Smectite	2:1	0.5–1.2	$Na_{0.35}(Al_{1.65}Mg_{0.35}Si_4O_{10})(OH)_2 \cdot nH_2O$
Vermiculite	2:1	1.2–1.8	$(Mg,Ca)_{0.35}(Mg,Fe^{2+},Al)_3((Al,Si)_4O_{10})(OH)_2 \cdot 4H_2O$
Chlorite	2:1 with hydroxide interlayer	variable	$(Mg,Al,Fe)_4((Al,Si)_4O_{10})(OH)_8$

La vermiculite est une argile trifoliaire dont toutes les positions octaédriques sont occupées par Mg^{2+} et Fe^{2+} , et avec plus de substitution de Al pour Si que dans la smectite. Elle est beaucoup moins gonflante que la smectite mais sa grande capacité d'échange ionique lui est similaire.

Finalement, les chlorites ont des structures dans lesquelles les couches semblables aux micas avec la composition générale $(Mg, Fe)_3(Si, Al)_4O_{10}(OH)_2$ alterne avec les couches de la composition de la brucite $[(Mg, Al)_3(OH)_6]$.

Ainsi, la kaolinite et l'illite se sont formées durant la météorisation de roches felsiques, remplaçant notamment les micas et feldspaths riches en K. Les smectites sont typiquement associées avec la météorisation de roches mafiques, et la serpentine avec la météorisation de roches mafiques et ultramafiques. La vermiculite est le produit de météorisation de la biotite, de la chlorite et du hornblend.

9. La formation des sols

La plupart des sols sont constitués en majeure partie par des argiles. La formation des sols est considérée comme la dernière étape du processus de météorisation. Le sol se définit comme un matériau minéral ou organique non consolidé, d'au moins 10 cm d'épaisseur, qui se trouve naturellement à la surface du globe et est capable de supporter la croissance des plantes. Le sol s'étend depuis la surface de la terre à travers les horizons génétiques, s'il y en a, jusque dans le matériau sous-jacent, pour atteindre la profondeur de la coupe témoin. Le développement du sol implique des facteurs climatiques et des organismes, soumis aux conditions du relief et donc au régime de l'eau, agissant à travers le temps sur les matériaux géologiques et ainsi modifiant les propriétés du matériau parental (Agriculture Canada, 1998).

Typiquement, un sol minéral est composé de trois horizons A, B et C (Figure 6.7). Un horizon de sol est une couche de sol minéral ou organique, ou encore de matériau du sol, approximativement parallèle à la surface du terrain dont les caractéristiques sont affectées par les processus de formation du sol.

Horizon A

Horizon B

Horizon C

R ou W



Figure 6.7. Schéma d'une coupe de sol minéral verticale typique.

Les horizons minéraux contiennent, en poids, 17% ou moins de C organique (environ 30% de matière organique). L'horizon A (Figure 7) est formé, à la surface ou tout près, dans la zone de lessivage ou d'éluviation de matériaux en solution ou en suspension, ou dans celle d'accumulation maximale *in situ* de matière organique, ou dans les deux à la fois. L'horizon B est caractérisé par l'enrichissement en matière organique, en sesquioxydes ou en argile, le développement de la structure du sol, ou un changement de la couleur indiquant l'hydrolyse, la réduction ou l'oxydation. L'horizon C est comparativement inaffecté par les processus pédogéniques agissant dans A et B. La couche R est une couche de roc consolidé trop dure pour être brisée à la main ou creusée à la pelle à l'état humide et qui ne rencontre pas les exigences d'un horizon C. Enfin, W est une couche d'eau (Agriculture Canada, 1998).

La classification des sols est difficile car elle implique de nombreux facteurs: taille des grains, composition, plasticité, force mécanique, couleur, fertilité, perméabilité, matériau

parental, degré de maturité, nature du profil. Au Canada on rencontre 10 ordres de sol différents, soit (en ordre alphabétique): brunisol, chernozème, cryosol, gleysol, luvisol, organique, podzol, régosol, solnetzique, et vertisol.

Le brunisol est un sol jeune formé sous couvert forestier et ayant un horizon caractéristique Bm ('m' signifiant modifié) de couleur brunâtre. Le chernozème est typique des sols de prairies mal drainés, et caractérisé par un horizon Ah ('h' pour humique) épais noirci par l'accumulation de matière organique. Les cryosols sont formés sur matériaux minéraux ou organiques ayant un pergélisol et leur température annuelle moyenne est inférieure à 0 °C. Le gleysol, fréquent dans les Basses Terres du Saint-Laurent, subit l'influence de périodes prolongées de saturation d'eau ou de conditions réductrices au cours de la pédogénèse, et est caractérisé par un horizon Bg ('g' signifiant gleyifié). Les luvisols ont des horizons éluvial et Bt ('t' pour enrichissement en argile) comme définis. Les sols organiques contiennent 17% ou plus, en poids, de C organique (30% de matière organique). Les podzols se sont formés sur des matériaux parentaux acides de texture grossière à moyenne, sous une végétation de forêt, et sont caractérisés par un horizon Bf ('f' pour accumulation d'oxydes de fer) d'au moins 10 cm d'épaisseur. Les régosols sont faiblement développés et l'horizon B est souvent absent. Les sols solnetziques, caractérisés par un horizon B très dur à l'état sec et collant à l'état humide, se développent sur des matériaux parentaux salins. Enfin, les vertisols se développent dans des matériaux à texture lourde (>6% argile dont la moitié smectite) et ont la caractéristique de gonfler et dégonfler résultant des cycles de pluies et de sécheresse (Agriculture Canada, 1998).

Conclusion

La météorisation chimique implique divers processus chimiques: dissociation ionique, addition d'eau et de dioxyde de carbone, hydrolyse, oxydation, adsorption, et échange ionique. L'eau et ses sels et acides dissous sont probablement les facteurs les plus importants dans la météorisation des minéraux. À travers l'hydrolyse, l'hydratation et la dissolution, l'eau augmente la dégradation, l'altération et la resynthétisation des minéraux. La météorisation est accélérée par la présence d'ions hydrogènes dans l'eau comme ceux fournis par les acides carboniques et organiques. L'oxydation est particulièrement fréquente dans les roches contenant du fer, un élément facilement oxydable. Ces différents processus chimiques surviennent simultanément et sont interdépendants.

Les argiles résultent de la météorisation de la roche. La kaolinite et l'illite se sont formées durant la météorisation de roches felsiques, remplaçant notamment les micas et feldspaths riches en K. Les smectites sont typiquement associées avec la météorisation de roches mafiques, et la serpentine avec la météorisation de roches mafiques et ultramafiques. La vermiculite est le produit de météorisation de la biotite, de la chlorite et du hornblend.

La plupart des sols sont constitués en majeure partie par des argiles. La formation des sols est considérée comme la dernière étape du processus de météorisation. La classification des sols est difficile car elle implique de nombreux facteurs: taille des grains, composition, plasticité, force mécanique, couleur, fertilité, perméabilité, matériau parental, degré de maturité, nature du profil. Au Canada, on rencontre dix ordres de sols: brunisol, chernozème, cryosol, gleysol, luvisol, organique, podzol, régosol, solnetzique, et vertisol.

RÉFÉRENCES

- AGRICULTURE CANADA, 1998. Le système canadien de classification des sols. 3^{ème} Édition, Ministère des Approvisionnement et Services Canada, Ottawa. Site internet : http://sis.agr.gc.ca/siscan/references/1998sc_a.html .
- BRADY, N.C. et WEIL, R.R. 2002. The nature and properties of soils. Prentice Hall, New Jersey, 13^{ème} édition, 960p.
- CAILLÈRE, S., HÉNIN, S., et RAUTUREAU, M. 1982. Minéralogie des argiles - 1. Structure et propriétés physico-chimiques. Inra et Masson, New York, 184 pp.
- FAURE, G. 1991. Principles and application of inorganic geochemistry. Macmillan Publishing Company, Toronto, 626 pp.
- KRAUSKOPF, K.B. et BIRD, D.K., 1995. Introduction to geochemistry. McGraw-Hill Inc., Montréal, 647 pp.
- SPOSITO, G. 1989. The chemistry of soils. Oxford University Press, Toronto, 277 pp.

