

Accumulation et effets des éléments métalliques sur les populations végétales spontanées de trois crassiers métallurgiques :

Peut-on utiliser les plantes comme bioindicateurs ?

E. Remon⁽¹⁾, J-L. Bouchardon⁽¹⁾, J. Joly⁽²⁾, B. Cornier⁽²⁾ et O. Faure⁽²⁾

- 1) Laboratoire de Géochimie, ENvironnement, Ecoulements, Réacteurs Industriels et Cristallisation (GENERIC), Ecole Nationale Supérieure des Mines, 158 Cours Fauriel, F-42023 Saint Etienne cedex 2, France
- 2) PRES de Lyon, Université Jean Monnet, Laboratoire d'Ecophysiologie Appliquée, F-42023 Saint Etienne cedex 2, France

RÉSUMÉ

Il est aujourd'hui important de disposer d'outils efficaces pour évaluer la biodisponibilité et les effets écologiques des éléments métalliques des sols pollués. Dans ce contexte, la caractérisation de bioindicateurs de la qualité des sols représente un enjeu important. Pour répondre à cet objectif, nous proposons d'étudier l'accumulation foliaire et les associations végétales de la flore spontanée. Trois sites contaminés ont été étudiés. Sur deux d'entre eux, les concentrations métalliques (Cr, Cu, Ni, Pb et Zn) mesurées dans les plantes sont comparables à celles de la végétation se développant en milieu naturel non contaminé. Pour le troisième, ces concentrations sont significativement supérieures. De plus, ces analyses ont permis de différencier clairement les sites au regard de la phytodisponibilité des métaux. L'étude botanique des sites contaminés indique que si la végétation paraît normale, avec beaucoup d'espèces communes, les quatre associations végétales identifiées sont néanmoins particulières, voire inédites pour trois d'entre elles. Cette observation suggère que le substrat, indépendamment de la mobilité des métaux, a un effet sur la structure des communautés végétales. L'ensemble de ces résultats montre que l'analyse classique de sol peut être avantageusement complétée par des analyses de la végétation au regard de l'estimation de la biodisponibilité des éléments métalliques et de leurs effets.

Mots clés

Contamination métallique, phytodisponibilité, accumulation, phytosociologie.

SUMMARY**ACCUMULATION AND EFFECTS OF METALS IN SPONTANEOUS PLANT POPULATIONS FROM THREE METALLURGICAL LANDFILLS: a suitable bioindication strategy for the evaluation of soil quality?**

The actual risk of metals doesn't depend on their total concentrations, but rather on their bioavailability and own toxicity, it is important to get suitable tools for evaluating bioavailability and ecological effects of metals in situ. In this context, characterization of bioindicators of soil quality is a challenging issue. In this work, we hypothesized that plants colonizing metal-contaminated soils could be an efficient tool to assess both the bioavailability of metals, and their effect on local ecosystem. To check this hypothesis, we studied spontaneous vegetation colonizing three metallurgical landfills characterised by different total and extractible heavy metals fractions (Table I), both in terms of metal accumulation in leaves and of phytosociological associations. Results (Table II and III) showed that for two out of the three studied sites, leaf metals in native plants were closely comparable to normal concentrations found in plants growing in uncontaminated soil, while for the third site average levels in Cr, Cu, Ni, Pb and Zn were significantly higher. Thus, measurements of leaf metals clearly discriminated the studied sites, with respect to actual metal phytoavailability. Botanical survey of the three study sites showed that the vegetation was quite normal, with common species, their associations were unusual and, among the four major plant groups we identified, three of them had never been described. This suggested that metallurgical soils had an effect on the structure of plant communities independently from metal bioavailability. These overall results show that beside soil analyses, plants can provide additional indications regarding both the effects and potential mobility of pollutants.

Key-words

Metallic contamination; Phytoavailability; Accumulation; Phytosociology.

RESUMEN**ACUMULACIÓN Y EFECTOS DE ELEMENTOS METÁLICOS SOBRE LAS POBLACIONES VEGETALES ESPONTANEAS DE TRES DESCARGAS METALÚRGICAS: ¿se puede utilizar plantas como bio-indicadores?**

Está importante hoy en día disponer de herramientas eficaces para evaluar la biodisponibilidad y los efectos ecológicos de los elementos metálicos de los suelos contaminados. En este contexto, la caracterización de bioindicadores de la calidad de los suelos representa un reto importante. Para contestar a este objetivo, proponemos estudiar la acumulación foliar y las asociaciones vegetales de la flor espontánea. Se estudiaron tres sitios contaminados. Sobre dos de ellos, las concentraciones metálicas medidas en las plantas están comparables a las de la vegetación que se desarrolla en medio natural no contaminado. Por el tercer sitio, estas concentraciones están significativamente superiores. Además, estos análisis permitieron diferenciar claramente los sitios por la fitodisponibilidad de los metales. El estudio botánico de los sitios contaminados indica que si la vegetación parece normal, con muchas especies comunes, las cuatro asociaciones vegetales identificadas están sin embargo particulares, incluso inéditas por tres de ellas. Esta observación sugiere que el substrato, independientemente de la movilidad de los metales, tiene un efecto sobre la estructura de las comunidades vegetales. El conjunto de estos resultados muestra que el análisis clásico del suelo, puede estar ventajosamente completado por análisis de la vegetación a la vista de la estimación de la biodisponibilidad de los elementos metálicos y de sus efectos.

Palabras clave

Contaminación metálica, fitodisponibilidad, acumulación, fitosociología.

La prise de conscience récente du mauvais état sanitaire des sols, et notamment du problème spécifique des éléments traces métalliques (ETM) pose le problème de l'estimation des risques pour chaque situation de pollution. En réalité, une des questions essentielles à laquelle on doit répondre lorsqu'on étudie des sols contaminés par des métaux est de savoir si ces éléments sont biodisponibles. Pour répondre à cette question, de nombreux protocoles d'extractions chimiques des ETM des sols ont été développés. Fondamentalement, ces méthodes sont basées soit sur l'utilisation d'extractants plus ou moins forts en une seule étape (Beckett, 1989; Houba *et al.*, 1990), soit sur des procédures d'extractions séquentielles (Teissier *et al.*, 1979; Quevauviller *et al.*, 1997). Si ces approches ont permis d'obtenir d'importantes informations sur les interactions entre les éléments métalliques et les différentes fractions des sols, elles ne mettent pas en évidence la fraction réellement en interaction avec les êtres vivants (Mc Laughlin *et al.*, 2000). Par conséquent, le développement de méthodes complémentaires pour évaluer la biodisponibilité des ETM reste nécessaire. Dans cette perspective, l'analyse des concentrations foliaires de plantes a été largement utilisée. Ainsi, certaines plantes ont été déterminées comme indicatrices de la biodisponibilité des métaux: *Taraxacum officinale* (Simon *et al.*, 1996), *Capsella bursa-pastoris* (Aksoy *et al.*, 1999) ou encore *Populus alba* (Madejon *et al.*, 2004). Cependant, l'utilisation d'une seule espèce pour estimer la biodisponibilité métallique a fait l'objet de différentes critiques (Mertens *et al.*, 2005), principalement parce que l'accumulation métallique dans la plante peut être à la fois élément-dépendant et espèce-dépendant (Baker, 1981).

En dehors de la question de la biodisponibilité des éléments métalliques, il est important d'évaluer les effets des contaminants métalliques sur l'écosystème local. Dans cette optique, la caractérisation des associations végétales se développant sur des sols contaminés pourrait être utile. En effet, il est depuis longtemps établi que la qualité des sols, et notamment les concentrations métalliques, a un impact sur la composition des communautés végétales Brooks (1983). Dans l'ouest de l'Europe, plusieurs auteurs ont décrit la végétation de sols métallifères naturels développés sur des minéralisations, tels que les sols « calaminaires » (Pb et Zn) en Belgique et en Allemagne ou les affleurements « serpentiniens » (Ni) de France. Ces études ont conduit à l'identification d'associations végétales métallocoles caractéristiques comme *Violetum calaminariae* et *Thlaspio-Armerietum plantaginae* (Ernst, 1976). Paradoxalement, cette approche n'a été que peu utilisée pour caractériser la végétation de sites anthropiques. En France, une étude sur des terrains avoisinant une industrie métallurgique dans la région Nord-Pas de Calais a permis de décrire une association particulière: l'*Armerietum halleri* (Bardat *et al.*, 2004). Cette association de type prairial, composée des espèces caractéristiques *Armeria maritima* subsp. *halleri* et *Arabidopsis halleri*, est la seule à être reliée à une pollution non naturelle. Bien qu'il n'y ait pas de doute sur les effets de la contamination métallique des sols sur la flore,

les données existantes sont encore trop parcellaires pour que cette approche soit utilisée en routine.

Dans ce travail, nous proposons d'utiliser les plantes colonisant certains sites contaminés par des éléments métalliques pour estimer la biodisponibilité des ETM et leurs effets sur l'écosystème local. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons étudié la végétation spontanée de trois anciennes décharges métallurgiques. Nous avons mesuré les concentrations métalliques foliaires de plusieurs espèces dominantes et réalisé une étude botanique exhaustive afin d'identifier les associations végétales caractéristiques de ce type d'habitat. Les résultats sont discutés dans la perspective d'utiliser les plantes comme bioindicateurs.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Description des sites d'étude

Trois anciennes décharges de déchets de fonderie métallurgique d'âge différent ont été étudiées. La première (site « D »), située dans la vallée de l'Ondaine, couvre une surface d'environ 2 ha et présente un couvert végétal dense constitué de différentes espèces d'arbres et de buissons. Bien que nous ayons que peu d'éléments historiques, nous supposons qu'elle a été abandonnée depuis plus de 60 ans. La deuxième décharge (site « L »), située sur la même commune, a fonctionné de 1916 jusqu'au milieu des années cinquante. Elle s'étend sur 4,5 ha et présente pratiquement le même type de végétation avec plusieurs étendues herbeuses. La troisième décharge (site « U ») est située dans la vallée du Gier sur le site d'une aciérie encore en activité. Elle s'étend sur une quinzaine d'hectares et a été utilisée depuis 1850 jusqu'en 2001. Le couvert végétal, régulièrement perturbé par le passage d'engins de chantier, y est plus clairsemé et hétérogène. Seules quelques zones préservées présentent un couvert végétal plus dense. Dans une étude antérieure (Remon *et al.*, 2005), il a été montré que ce type de sol est caractérisé par une texture sableuse, un pH relativement basique (> 7,6), une forte teneur en carbonates, une forte teneur en carbone organique, un faible rapport C/N et des concentrations élevées à la fois en Si et Ca, mais aussi en Fe et Mn.

De façon à comparer ces sites à une situation naturelle, nous avons inclus un quatrième site non contaminé comme contrôle (site « Nat »), présentant la même typologie et situé proche des trois autres sites étudiés.

Analyses de sol

Pour chaque site, 3 à 19 prélèvements aléatoires de 0 à 20 cm de profondeur ont été réalisés, suivant la surface du site. Les échantillons ont été séchés à 60 °C pendant 48 heures et tamisés à 2 mm avant analyse.

Des extractions métalliques utilisant un mélange d'acides nitrique et chlorhydrique (1:3 v/v) ont été réalisées en suivant la procédure NF X 31-151 (AFNOR 1994) de façon à estimer la fraction totale non silicatée et avec de l'acétate d'ammonium-EDTA suivant la norme NF X 31 120 (AFNOR 1999b) pour obtenir la fraction potentiellement mobile.

Les concentrations métalliques des différentes solutions obtenues ont été mesurées par spectrométrie optique d'émission de plasma à couplage induit (ICP-OES) avec un spectromètre Jobin Yvon JY24, comme décrit dans un autre travail antérieur (Remon *et al.*, 2005).

Analyses de plantes

Pour chaque site prospecté, la concentration métallique foliaire de 6 à 10 espèces dominantes a été mesurée. Des répliquas de chaque espèce ont été collectés en divers endroits suivant l'hétérogénéité apparente du site considéré.

Chaque échantillon a été soigneusement lavé à l'eau du robinet puis rincé trois fois à l'eau déionisée. Ils ont été ensuite séchés à 40 °C jusqu'à masse constante puis réduits en poudre. Les minéralisations à l'acide nitrique ont été réalisées suivant le protocole publié par Zarcinas *et al.*, (1987). Les concentrations métalliques des solutions ainsi obtenues ont été mesurées par ICP-OES comme indiqué ci-dessus.

Précision et contrôle qualité des analyses

Les limites de détection étaient respectivement de 0,06 / 0,14 / 1,17 / 2,05 / 2,38 et 15,51 μl^{-1} pour Zn / Cd / Cr / Cu / Pb et Ni. Pour estimer la répétitivité analytique, 20 % des échantillons, sélectionnés au hasard, ont fait l'objet d'analyses en triplicats. L'écart-type moyen obtenu est compris entre 1 et 8 %.

Le contrôle de la qualité des analyses de sol a été opéré par l'analyse d'échantillons de matériel certifié, NCS DC 73323 et 73006 (Centre National Chinois d'Analyse de l'Acier et du Fer), inclus dans les séries analytiques. Les taux de recouvrements obtenus sur 6 répliquas pour Zn / Cd / Cr / Cu / Pb et le Ni, sont respectivement de 83 / 73 / 85 / 104 et 99 %.

Pour les analyses de plantes, la même stratégie a été utilisée avec un échantillon référence CTA-OTL1 provenant de l'Institut Bulgare de Protection des Plantes. Les taux de recouvrement, pour les mêmes éléments, sont respectivement de 98 / 87 / 110 / 97 / 106 et 103 %.

Caractérisation des associations végétales

L'analyse floristique a été basée sur l'étude botanique de 39 placettes homogènes (N°1 à 9 pour le site « D », 10 à 23, 38 et 39 pour le site « L » et 24 à 27 pour le site « U ») réalisée durant la période de l'optimum de végétation de mai à juin 2006. Les espèces identifiées ont été nommées suivant la nomenclature de la flore française (Bock, 2003). L'identification des associations

végétales existantes a été réalisée par correspondance avec la troisième édition du code international de nomenclature phytosociologique (Weber *et al.*, 2000).

Analyses statistiques

Les résultats obtenus pour les concentrations métalliques foliaires ont été analysés en deux temps. Tout d'abord une recherche des points aberrants (« outliers ») a été effectuée par un test de déviance (Test de Grubbs). Une fois les points aberrants écartés, les concentrations métalliques moyennes ont été utilisées dans une analyse de variance (ANOVA) suivie si nécessaire d'un test de différence (LSD, Least Significant Difference), de façon à comparer la végétation de chacun des sites. Tous les calculs ont été effectués grâce au logiciel STATISTICA V6.1 (StatSoft). Le seuil de significativité a été fixé à $p < 0,05$.

RÉSULTATS

Concentrations totales et extractibles des éléments métalliques dans le sol

Les valeurs moyennes des concentrations métalliques obtenues sur les sites (*tableau 1*) montrent que les sols formés sur les décharges métallurgiques ont été très fortement contaminés. Le site « U » apparaît comme le plus contaminé en Cd, Cu et Pb (respectivement 142, 51 et 141 fois plus pollué que le site « Nat »), alors que le site « D » est celui qui présente les concentrations les plus fortes en Cr, Ni et Zn (respectivement 91, 132 et 42 fois plus élevées que pour le site « Nat »). Le site « L » apparaît comme le moins contaminé avec toutefois des concentrations 3 à 20 fois supérieures à celles du site « Nat ».

Les tendances observées ci-dessus diffèrent légèrement des extractions à l'acétate d'ammonium-EDTA, même si tous les sites contaminés étudiés présentent des concentrations assez élevées. En effet, le site « U » présente les teneurs extractibles en Cu et en Pb les plus élevées (respectivement 13 et 97 fois plus importantes que le site « Nat ») ; le Cd, le Cr et le Ni sont extraits de façon plus importante sur le site « D ». Pour finir, les valeurs mesurées sur le site « L » sont quant à elles les moins élevées mais restent tout de même 2 à 25 fois supérieures au site « Nat ».

Concentrations métalliques foliaires

Nous avons analysé les teneurs en ETM des feuilles des espèces les plus abondantes, pour lesquels plusieurs échantillons ont été sélectionnés aléatoirement, en différents endroits de chaque site (*tableau 2*).

D'une façon générale, les concentrations métalliques foliaires sont très comparables d'une espèce à l'autre sur un

Tableau 1 : pH et concentrations métalliques (fractions "totale"¹ et "extractible"²) mesurés à partir des sols de trois décharges métallurgiques (L, D et U) et d'un site naturel (Nat). Les valeurs données correspondent aux moyennes \pm l'erreur standard; n=15, n=12, n=19 et n=3 respectivement pour L, D, U et Nat.

Table 1 : pH and heavy metal contents ("total"¹ and "extractable"² fractions) in soils from three metallurgical landfills (L, D and U) and one control uncontaminated site (Nat). Mean values \pm SE; n=15, n=12, n=19 and n=3 for L, D, U and Nat, respectively).

| Sites | pH | Fraction | Métaux (mg kg ⁻¹) | | | | | |
|-------|-----------------|-----------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| D | 8,25 \pm 0,03 | Totale | 25,5 \pm 18,4 | 2984 \pm 989 | 417 \pm 146 | 2409 \pm 791 | 1522 \pm 986 | 4482 \pm 3421 |
| | | « extractible » | 9,5 \pm 6,6 | 3,3 \pm 2,2 | 44,9 \pm 13,3 | 17,7 \pm 7,4 | 314 \pm 142 | 241 \pm 150 |
| L | 7,89 \pm 0,19 | Totale | 0,86 \pm 0,59 | 343 \pm 55 | 152 \pm 20 | 275 \pm 43 | 790 \pm 170 | 312 \pm 108 |
| | | « extractible » | 0,25 \pm 0,08 | 0,15 \pm 0,05 | 26,4 \pm 2,8 | 3,5 \pm 0,5 | 449 \pm 118 | 44,5 \pm 22,1 |
| U | 8,30 \pm 0,54 | Totale | 42,5 \pm 17,2 | 1804 \pm 306 | 975 \pm 329 | 950 \pm 151 | 5408 \pm 3251 | 3704 \pm 1666 |
| | | « extractible » | 4,97 \pm 2,85 | 0,53 \pm 0,15 | 51,9 \pm 10,2 | 6,95 \pm 1,47 | 1723 \pm 1145 | 241 \pm 66 |
| Nat | 4,05 \pm 0,30 | Totale | 0,30 \pm 0,09 | 32,6 \pm 1,7 | 19,1 \pm 0,1 | 18,2 \pm 0,8 | 38,4 \pm 0,6 | 106,7 \pm 3,3 |
| | | « extractible » | 0,13 \pm 0,02 | 0,46 \pm 0,06 | 3,9 \pm 0,2 | 1,5 \pm 0,4 | 17,7 \pm 3,9 | 5,6 \pm 0,6 |

¹ Extraite à l'eau régale

² Extraite à l'acétate d'ammonium - EDTA

même site. Cependant, quelques espèces se distinguent tout de même (tableau 2, valeurs marquées par *), par leurs plus fortes concentrations métalliques. On peut citer par exemple *Robinia pseudoacacia* pour le Ni, *Plantago arenaria* pour le Cu et le Zn ou *Reseda lutea* pour le Cr. L'échantillonnage de chaque espèce étant aléatoire, il est très improbable que ces différences des concentrations foliaires entre espèces d'un même site proviennent de différences au niveau des concentrations du sol. Par conséquent, nous avons considéré ces données comme des points aberrants et nous les avons écartées pour la suite des calculs. Pour chaque site métallurgique nous avons donc calculé les concentrations métalliques moyennes des espèces dominantes en les excluant (tableau 3); les résultats ont été comparés avec ceux obtenus sur site non contaminé.

Il apparaît clairement que les plantes des sites « L » et « D » ont des concentrations métalliques foliaires comparables, qui ne sont pas significativement supérieures à celles du site « Nat », non contaminé. Par contre, la végétation du site « U » présente des teneurs en Cr, Cu, Ni, Pb et Zn significativement supérieures, en particulier pour le Ni qui présente des concentrations 11 fois supérieures à celles du site « Nat ».

Groupements et associations végétales

L'étude de la végétation réalisée sur les décharges a permis de mettre en évidence trois grands types d'associations végétales: une végétation de type pionnière, une végétation prairiale et une végétation forestière (relevés non présentés).

Seul le site « U », le plus récent, abrite une association de plantes pionnières. Cette association, dont les espèces caractéristiques sont *Mellilotus albus*, *Lactuca serriola*, *Echium vulgare* et *Oenothera biennis*, a été identifiée comme étant l'*Echio vulgaris-mellilotetum albi* Tuxen appartenant à la classe *Artemisietea vulgaris*. Cette association présente une espèce dominante inhabituelle, *Plantago arenaria*, normalement caractéristique d'autres associations. Dans ces conditions, *Plantago arenaria* peut être considéré comme une espèce différentielle, marquant une sous-association locale. Une autre caractéristique intéressante de cette sous-association est la présence d'*Atriplex rosea*, espèce très rare dans la région.

Une végétation de type prairial est présente sur les sites « D » et « L », mais pas sur le site « U ». Bien que les espèces identifiées soient assez communes, leur regroupement ne correspond pas à des associations décrites à ce jour. En fait, deux groupements bien distincts ont été identifiés. Le premier appelé « groupe à *Bromus* et *Diplotaxis* » appartient à la classe *Sisymbrieta officinalis*; ses espèces caractéristiques sont *Bromus sterilis*, *Diplotaxis tenuifolia*, *hondrilla juncea* et *Bromus tectorum*. Le second groupement appelé « groupe à *Poa* et *Elytrigia* » appartient à la

Tableau 2: Concentrations métalliques foliaires des espèces végétales dominantes (valeurs moyennes \pm SE; n=10) récoltées sur trois décharges métallurgiques (L, D et U) et sur un site naturel non contaminé (Nat).

Table 2: Heavy metal concentrations (mean values \pm SE; n=10) in leaves of dominant plant species taken on three metallurgical landfills (L, D and U) and on a natural uncontaminated site (Nat).

| Sites | Espèces | Métaux (mg kg ⁻¹) | | | | | |
|----------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|-----------------------|
| | | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| D | <i>Acer platanoides</i> | 0,09 \pm 0,01 | 0,24 \pm 0,02 | 3,29 \pm 0,24 | 1,69 \pm 0,39 | 0,07 \pm 0,02 | 19,64 \pm 1,87 |
| | <i>Chelidonium majus</i> | 0,12 \pm 0,04 | 0,85 \pm 0,16 | 2,80 \pm 0,20 | 1,04 \pm 0,13 | 0,04 \pm 0,02 | 38,02 \pm 13,61 |
| | <i>Clematis vitalba</i> | 0,11 \pm 0,02 | 0,65 \pm 0,15 | 6,95 \pm 0,55 | 7,83 \pm 1,90 | 0,07 \pm 0,02 | 28,96 \pm 2,53 |
| | <i>Geranium pyrenaicum</i> | 0,23 \pm 0,09* | 0,77 \pm 0,05 | 3,28 \pm 0,28 | 1,33 \pm 0,36 | 0,14 \pm 0,04 | 22,48 \pm 5,58 |
| | <i>Hedera helix</i> | 0,79 \pm 0,34* | 2,68 \pm 0,53 | 3,15 \pm 0,25 | 1,67 \pm 0,39 | 0,37 \pm 0,10* | 50,36 \pm 7,84 |
| | <i>Robinia pseudoacacia</i> | 0,06 \pm 0,01 | 0,51 \pm 0,08 | 4,85 \pm 0,44 | 10,69 \pm 1,42 | 0,10 \pm 0,05 | 27,74 \pm 1,67 |
| | <i>Rubus sp.</i> | 0,07 \pm 0,01 | 1,76 \pm 0,26 | 3,85 \pm 0,42 | 2,61 \pm 0,66 | 0,05 \pm 0,01 | 16,87 \pm 1,26 |
| | <i>Taxus baccata</i> | 0,08 \pm 0,01 | 0,70 \pm 0,05 | 1,37 \pm 0,10 | 3,98 \pm 1,62 | 0,17 \pm 0,03 | 41,67 \pm 8,09 |
| L | <i>Acer platanoides</i> | 0,05 \pm 0,00 | 0,74 \pm 0,08 | 4,04 \pm 0,16 | 0,92 \pm 0,11 | 0,16 \pm 0,04 | 14,09 \pm 0,85 |
| | <i>Artemisia campestris</i> | 0,26 \pm 0,03* | 0,84 \pm 0,17 | 9,79 \pm 1,00* | 2,26 \pm 0,61 | 0,45 \pm 0,12 | 23,79 \pm 1,76 |
| | <i>Cornus sanguinea</i> | 0,06 \pm 0,00 | 0,86 \pm 0,24 | 2,18 \pm 0,26 | 0,37 \pm 0,07 | 0,13 \pm 0,02 | 12,18 \pm 1,06 |
| | <i>Crataegus monogyna</i> | 0,11 \pm 0,04 | 1,70 \pm 0,11 | 3,56 \pm 0,37 | 0,50 \pm 0,08 | 0,13 \pm 0,05 | 22,16 \pm 2,06 |
| | <i>Elytrigia campestris</i> | 0,06 \pm 0,00 | 1,89 \pm 0,45 | 2,12 \pm 0,17 | 0,39 \pm 0,10 | 0,24 \pm 0,09 | 13,82 \pm 1,58 |
| | <i>Galium aparine</i> | 0,07 \pm 0,01 | 1,19 \pm 0,15 | 2,62 \pm 0,29 | 0,61 \pm 0,11 | 0,56 \pm 0,24 | 21,23 \pm 2,51 |
| | <i>Mellilotus albus</i> | 0,08 \pm 0,01 | 0,74 \pm 0,09 | 3,90 \pm 0,29 | 1,88 \pm 0,28 | 1,23 \pm 0,34* | 18,20 \pm 1,44 |
| | <i>Robinia pseudoacacia</i> | 0,04 \pm 0,00 | 6,75 \pm 2,07* | 4,99 \pm 0,57 | 6,16 \pm 1,06* | 0,02 \pm 0,01 | 30,84 \pm 1,30 |
| | <i>Rubus sp.</i> | 0,05 \pm 0,01 | 4,04 \pm 0,52* | 5,17 \pm 0,30 | 1,03 \pm 0,20 | 0,13 \pm 0,04 | 22,67 \pm 1,18 |
| | <i>Vicia sativa</i> | 0,05 \pm 0,00 | 0,67 \pm 0,07 | 3,42 \pm 0,22 | 1,49 \pm 0,26 | 0,25 \pm 0,06 | 28,25 \pm 1,84 |
| U | <i>Ailanthus altissima</i> | 0,03 \pm 0,01 | 0,63 \pm 0,13 | 12,33 \pm 1,25 | 35,59 \pm 11,06 | 0,52 \pm 0,09 | 138,42 \pm 50,39 |
| | <i>Lactuca virosa</i> | 0,74 \pm 0,30* | 1,55 \pm 0,34 | 15,26 \pm 1,49 | 16,79 \pm 5,52 | 1,85 \pm 0,38 | 188,25 \pm 42,98 |
| | <i>Mellilotus albus</i> | 0,24 \pm 0,03 | 0,96 \pm 0,13 | 11,22 \pm 0,34 | 50,54 \pm 16,55 | 1,43 \pm 0,23 | 71,87 \pm 15,07 |
| | <i>Oenothera biennis</i> | 0,07 \pm 0,03 | 3,33 \pm 1,09 | 10,66 \pm 1,16 | 25,98 \pm 7,20 | 1,59 \pm 0,33 | 285,14 \pm 118,67 |
| | <i>Plantago arenaria</i> | 0,30 \pm 0,12 | 3,97 \pm 1,43 | 25,89 \pm 4,90* | 9,73 \pm 3,98 | 2,68 \pm 1,06 | 1041,22 \pm 427,28* |
| | <i>Populus nigra</i> | 2,86 \pm 2,05* | 1,35 \pm 0,20 | 10,72 \pm 0,63 | 18,93 \pm 10,41 | 1,45 \pm 0,99 | 199,67 \pm 41,14 |
| | <i>Reseda lutea</i> | 0,19 \pm 0,02 | 15,67 \pm 11,79* | 9,89 \pm 1,19 | 9,84 \pm 4,21 | 1,46 \pm 0,35 | 42,67 \pm 4,25 |
| | <i>Scrophularia canina</i> | 0,11 \pm 0,03 | 4,62 \pm 0,86 | 11,24 \pm 1,16 | 44,03 \pm 8,74 | 2,64 \pm 0,44 | 44,83 \pm 4,90 |
| | <i>Verbascum densiflorum</i> | 0,18 \pm 0,11 | 8,68 \pm 1,34 | 15,38 \pm 1,39 | 12,00 \pm 2,08 | 6,49 \pm 2,20* | 117,03 \pm 37,73 |
| Nat | <i>Acer pseudoplatanus</i> | 0,23 \pm 0,04 | 0,28 \pm 0,02 | 7,62 \pm 0,67 | 1,06 \pm 0,18 | 0,54 \pm 0,04 | 48,57 \pm 6,34 |
| | <i>Crataegus monogyna</i> | 0,10 \pm 0,01 | 0,16 \pm 0,01 | 7,13 \pm 0,49 | 2,16 \pm 0,29 | 0,60 \pm 0,02 | 29,15 \pm 2,78 |
| | <i>Hedera helix</i> | 1,88 \pm 0,29* | 0,25 \pm 0,08 | 9,37 \pm 0,71 | 3,78 \pm 0,32 | 0,23 \pm 0,09 | 115,67 \pm 17,56 |
| | <i>Lactuca serriola</i> | 1,35 \pm 0,17* | 0,16 \pm 0,01 | 13,31 \pm 1,81 | 1,49 \pm 0,39 | 0,53 \pm 0,03 | 102,67 \pm 13,70 |
| | <i>Lamium purpureum</i> | 0,04 \pm 0,00 | 0,57 \pm 0,04 | 11,19 \pm 0,95 | 1,58 \pm 0,30 | 0,71 \pm 0,06 | 118,57 \pm 14,8 |
| | <i>Robinia pseudoacacia</i> | 0,05 \pm 0,00 | 0,17 \pm 0,03 | 12,17 \pm 1,16 | 4,53 \pm 0,58 | 0,50 \pm 0,03 | 32,06 \pm 5,06 |
| | <i>Rubus sp.</i> | 0,12 \pm 0,02 | 0,24 \pm 0,01 | 8,03 \pm 0,61 | 2,42 \pm 0,32 | 0,63 \pm 0,06 | 29,11 \pm 4,37 |
| | <i>Teucrium scorodania</i> | 0,14 \pm 0,02 | 0,43 \pm 0,05 | 11,27 \pm 0,71 | 1,70 \pm 0,13 | 0,56 \pm 0,06 | 76,44 \pm 6,95 |
| <i>Urtica dioica</i> | 0,07 \pm 0,00 | 0,25 \pm 0,03 | 8,29 \pm 0,51 | 0,96 \pm 0,15 | 0,45 \pm 0,04 | 23,85 \pm 2,64 | |

*Test de déviance (test de Grubb), seuil à p=0.05

classe *Arrhenatherata eliatoris*; les espèces caractéristiques sont *Poa pratensis* et *Elytrigia campestris*.

La végétation forestière enfin, est présente sur les trois sites, mais avec des taux de recouvrement différents. Elle occupe pratiquement 95 % de la surface sur le site « D », environ 50 % sur le site « L » et moins de 5 % sur le site « U ». Un seul groupement de type forestier a été identifié et il ne correspond à aucune association déjà décrite. Ce groupement est caractérisé par une association de *Robinia pseudoaccacia*, *Rubus ulmifolius*, *Fraxinus excelsior*, *Crataegus monogyna*, *Hedera helix* et *Galium aparine* et peut être relié à la classe *Crataego monogynae-Prunetea spinosae*. De plus, deux variantes géographiques, marquées par des espèces spontanées, ont pu être relevées: sur le site « D », un certain nombre d'espèces échappées de jardins alentour (*Cotoneaster spp.*, *Prunus spp.*, *Mahonia aquifolius*...) a été relevé; et sur le site « U » les espèces introduites *Populus nigra* et *Ailanthus altissima* ont été identifiées.

DISCUSSION

Dans ce travail, nous avons étudié la végétation spontanée de trois décharges métallurgiques fortement contaminées par des éléments métalliques dans le but de répondre à deux questions: i/ l'analyse des concentrations foliaires d'espèces échantillonnées *in situ* peut-elle être exploitée pour renseigner la biodisponibilité des ETM ? ii/ les groupements végétaux peuvent-ils refléter l'impact des polluants sur l'écosystème ?

Dans une précédente étude (Baize, 2000) portant sur le fond pédogéochimique français, l'auteur définit les valeurs-seuil suivantes pour les sols non contaminés: le Cd à 0,16 mg kg⁻¹, le Cu à 12,8 mg kg⁻¹, le Ni à 31,0 mg kg⁻¹, le Pb à 34,0 mg kg⁻¹ et le Zn à 80,0 mg kg⁻¹. Ces valeurs sont tout à fait comparables

à celles obtenues pour le site « Nat ». A l'opposé, les trois décharges métallurgiques étudiées présentent des valeurs largement supérieures, avec un facteur 3 à 140 pour le Cd, 5 à 45 pour le Cr, 8 à 51 pour le Cu, 9 à 78 pour le Ni, 21 à 142 pour le Pb et 3 à 42 pour le Zn. Par ailleurs, l'estimation des fractions extractibles par le mélange acétate d'ammonium-EDTA suggère que, excepté pour le Cd et le Cr, les ETM sont fortement phytodisponibles. Cela est particulièrement net pour le Pb, le Cu et le Zn sur le site « U » et pour le Pb sur les deux autres sites, pour lesquels les valeurs des concentrations extractibles sont supérieures aux concentrations totales attendues dans un sol non pollué (Baize, 2000).

Au regard des résultats précédents, les concentrations métalliques foliaires auraient dû être importantes. Pourtant, nous n'avons pas observé de relation directe entre le contenu foliaire et la contamination des sols. Par exemple, les plantes du site « U » sont près de 6 fois plus contaminées en Ni que celles du site « D », alors que le sol de ce dernier site présente une concentration en Ni bien supérieure, à la fois en teneur totale et extractible. D'une façon analogue, les sites « D » et « L » présentent des concentrations extractibles en Cd, Cr, Ni, et Zn très différentes, alors que les concentrations accumulées dans les plantes sont très similaires. Comme l'avait déjà suggéré un certain nombre d'auteurs (Mc Laughlin *et al.*, 2000; Murphy *et al.*, 2000), ces résultats confirment que ni la concentration totale, ni la fraction extractible ne conviennent pour prédire la phytodisponibilité observée. Par conséquent, il est aujourd'hui nécessaire de compléter ces approches par des méthodes qui pourraient s'avérer plus pertinentes pour caractériser la biodisponibilité des ETM. L'analyse des contenus métalliques dans les végétaux se développant en environnement pollué (Murphy *et al.*, 2000; Alvarez *et al.*, 2003; Fränzle, 2006) pourrait apporter des données utiles.

Tableau 3: Concentrations foliaires moyennes des éléments métalliques mesurés dans la végétation spontanée de trois décharges métallurgiques (L, D et U) et d'un site naturel non contaminé (Nat).

Table 3: Average leaf metal concentrations in native vegetation from three metallurgical dumps (L, D and U) and from an uncontaminated area (Nat).

| Sites | Metals (mg kg ⁻¹)* | | | | | |
|-------|--------------------------------|--------------|---------------|---------------|----------------|-----------------|
| | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn |
| D | 0,09 ± 0,01a | 1,02 ± 0,28a | 3,69 ± 0,58a | 3,85 ± 1,25a | 0,09 ± 0,02a | 30,72 ± 4,13a |
| L | 0,06 ± 0,00a | 1,08 ± 0,16a | 3,56 ± 0,37a | 1,05 ± 0,23a | 0,23 ± 0,06a,b | 20,72 ± 1,96a |
| U | 0,16 ± 0,04a | 3,14 ± 0,95b | 12,09 ± 0,75b | 24,83 ± 5,09b | 1,70 ± 0,25c | 135,98 ± 30,04b |
| Nat | 0,11 ± 0,02a | 0,28 ± 0,05a | 9,82 ± 0,74c | 2,19 ± 0,41a | 0,53 ± 0,04b | 54,01 ± 13,23a |

* each value is the mean from 7 to 10 different species (10 independent samples by species)

a,b,c values followed by different letters in a same column are significantly different at p=0.05 (one way ANOVA followed by LSD comparisons)

Dans ce travail, nous avons choisi d'analyser un ensemble d'espèces végétales, afin de donner une meilleure image de la phytodisponibilité métallique et d'éviter les principales critiques de l'utilisation d'une seule espèce (Mertens *et al.*, 2005). Les résultats montrent que quelques espèces ont une concentration métallique plus élevée que la moyenne pour un ou plusieurs éléments (e.g. *Robinia pseudoaccacia* pour le Ni, *Plantago arenaria* pour le Zn et *Reseda lutea* pour le Cr). Ces quelques espèces se comportent comme des « accumulateurs », c'est-à-dire d'espèces qui concentrent principalement certains métaux dans leurs feuilles (Baker, 1981), « indépendamment de leur biodisponibilité » (Fränzle et Markert, 2002). Nous avons donc considéré ces espèces accumulatrices comme non représentatives du transfert potentiel des ETM vers la végétation. Par contre, dans la mesure où la plupart des espèces d'un même site présentent des concentrations métalliques foliaires comparables, ces valeurs peuvent être considérées comme une bonne indication de la phytodisponibilité des ETM. En utilisant cette approche, il apparaît clairement que les plantes des sites « L » et « D » ont des concentrations métalliques foliaires comparables, qui ne sont pas significativement supérieures à celles mesurées sur un site non contaminé. Par contre, la végétation du site « U » présente des teneurs en Cr, Cu, Ni, Pb et Zn significativement supérieures à celle des 2 autres sites métallurgiques et à celle du site naturel. Par conséquent, l'analyse des concentrations foliaires a clairement permis de discriminer les sols étudiés et a apporté une meilleure évaluation que les extractions chimiques.

La seconde question était de savoir si les contaminants des sols pollués ont un impact sur les organismes vivant sur place. A l'évidence, une rapide observation des sites confirme qu'une végétation, apparemment normale, se développe sur les 3 sites étudiés. De plus, la dynamique de succession végétale sur les sites métallurgiques (Bradshaw, 1983) est apparemment respectée sur les sites étudiés : associations pionnières colonisant le site le plus récent (« U »), associations prairiales et forestières sur les sites les plus anciens (respectivement « L » et « D »). Cependant, bien que les espèces identifiées correspondent à des taxons relativement courants, leurs associations sont assez inhabituelles et, parmi les quatre groupes que nous avons identifiés, trois d'entre eux n'ont jamais été décrits et le quatrième correspond à une sous-association locale originale. Nous pouvons donc conclure que les sols enrichis en ETM ont un effet visible sur la structure des communautés végétales. Il faut tout de même souligner que les processus de reconquête végétale sur sols métallurgiques ne sont probablement pas uniquement dépendants des concentrations en ETM, mais doivent aussi être dictés par d'autres contraintes édaphiques. Outre leurs fortes teneurs en ETM, les sols métallurgiques représentent des substrats inhabituels (Tordoff *et al.*, 2000), du fait notamment de leur pauvreté en macroéléments, de leur pH très élevé, de leur faible teneur en azote et de leur faible capacité de rétention d'eau (Bradshaw, 1987 ; Shu *et al.*, 2005). Il est donc

très probable que les associations végétales colonisant de tels habitats soient adaptées à l'ensemble des paramètres du sol et non aux seules fortes teneurs en ETM. Quoi qu'il en soit, il reste évident que l'étude des processus de reconquête végétale sur sols contaminés apporte des informations indispensables pour comprendre le fonctionnement de ces environnements complexes (Gemmel, 1977 ; Bradshaw, 1983 ; Bradshaw, 1987) et pour avoir une vision plus précise de l'impact général des polluants métalliques sur la dynamique de la végétation spontanée.

En conclusion, l'étude de la végétation, en terme de diversité floristique et d'accumulation foliaire, pourrait constituer, en complément des analyses classiques, un bioindicateur pertinent de la qualité des sols, pour estimer à la fois la phytodisponibilité métallique mais aussi l'impact des polluants sur les organismes vivants.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout particulièrement l'ADEME (Agence de l'Environnement et la Maîtrise de l'Energie) via le programme Bioindicateur, pour le support financier, ainsi que le professeurs Jean-Marie Royer et Bruno Cornier pour leur aide précieuse.

BIBLIOGRAPHIE

- AFNOR, 1994 - Soil quality - Soils, sediments, sewerage plant sludges - Solubilizing of metallic trace elements (Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) by acid attacks - Norme NF X 31-151. In: Afnor (Ed.), Recueil de normes françaises 1994 - Qualité des sols. AFNOR, Paris, pp. 123-129.
- AFNOR, 1999b - Soil quality - Determination of copper, manganese and zinc contents - Extraction by means of ammonium acetate in presence of EDTA - Norme NF X 31-120. In: Afnor (Ed.), Recueil Normes - Qualité des sols, vol. 1. AFNOR, Paris, pp. 237-243.
- Aksoy A., Hale W.H.G. & Dixon J.M., 1999 - *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic. as a biomonitor of heavy metals. *Sci. Total Environ.* 226, pp. 177-186.
- Alvarez E., Fernandez-Marcos M.L., Vaamonde C. & Fernandez-Sanjurjo M.J., 2003 - Heavy metals in the dump of an abandoned mine in Galicia (NW Spain) and in the spontaneously occurring vegetation. *Sci. Total Environ.* 313, pp. 185-197.
- Baize D., 2000 - Teneurs totales en "métaux lourds" dans les sols français - Résultats du programme ASPITET. *Courrier de l'Environnement de l'INRA* 39, pp. 39-54.
- Baker A.J.M., 1981 - Accumulators and excluders - Strategies in the response of plants to heavy metals. *J. Plant Nutr.* 3, pp. 643-654.
- Bardat J., Bioret F., Botineau M., Bouillet V., Delpech R. Géhu, J.-M., Haury, J., Lacoste A., Rameau J.-C., Royer J.-M., Roux G. & Touffet J., 2004 - *Prodrome des végétations de France*. Publications Scientifiques du Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, 171 p.
- Beckett P.H.T., 1989 - The use of extractants in studies on trace metals in soils, sewage sludges, and sludge-treated soils. In: B.A. Stewart (Ed.), *Advances in Soil Science*, 9. Springer-Verlag, New York, pp. 143-176.
- Bock B., 2003 - Base de données nomenclaturales de la Flore de France, BDNFF-V3.02. (After Kerguelen, M., Index Synonymique de la Flore de

- France, 1999). Tela Botanica, Montpellier. <http://tela-botanica.org/eflore>. Site visited in 2007.
- Bradshaw A.D., 1983 - The reconstruction of ecosystems. *J. Appl. Ecol.* 20, pp. 1-17.
- Bradshaw, A.D. 1987. Restoration of mined lands using natural processes. *Ecol. Eng.* 8, pp. 255-269.
- Brooks R.R., 1983 - Biological methods of prospecting for minerals. Wiley-Interscience, New York, 313 p.
- Ernst W., 1976 - *Violetea calaminariae*. In: R. Tüxen (Ed.), *Prodrome of the European plant communities*. Cramer J, Vaduz, Germany, pp. 1-133.
- Fränzle O., 2006 - Complex bioindication and environmental stress assessment. *Ecol. Indic.* 6, pp. 114-136.
- Fränzle S. & Markert B., 2002 - The Biological System of the Elements (BSE) - a brief introduction into historical and applied aspects with special reference on "ecotoxicological identity cards" for different element species (e.g. As and Sn). *Environ. Pollut.* 120, pp. 27-45.
- Gemmell, R.P. 1977 - Natural colonization of industrial wasteland. Edward Arnold Publishers, London, 75 p.
- Houba, V.J.G., Novozamski, I., Lexmond, T.H.M. & Van Der Lee, J.J. 1990. Applicability of 0.01 M CaCl₂ as a single extractant for the assessment of the nutrient status of soils and other diagnostic purposes. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 21, pp. 2281-2291.
- Madejon P., Maranon T., Murillo J.M. & Robinson B., 2004 - White poplar (*Populus alba*) as a biomonitor of trace elements in contaminated riparian forests. *Environ. Pollut.* 132 pp. 145-155.
- McLaughlin M.J., Zarcinas B.A., Stevens D.P. & Cook N., 2000 - Soil testing for heavy metals. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31, pp. 1661-1700.
- Mertens J., Luysaert S. & Verheyen K., 2005 - Use and abuse of trace metal concentrations in plant tissue for biomonitoring and phytoextraction. *Environ. Pollut.* 138, pp. 1-4.
- Murphy A.P., Coudert M. & Barker, J., 2000 - Plants as biomarkers for monitoring heavy metal contaminants on landfill sites using sequential extraction and inductively coupled plasma atomic emission spectrophotometry (ICP-AES). *J. Environ. Monit.* 2, pp. 621-627.
- Quevauviller P., Rauret G., Lopez-Sanchez J.F., Rubio R., Ure A. & Muntau H., 1997 - Certification of trace metal extractable contents in a sediment reference material (CRM 601) following a three step sequential extraction procedure. *Sci. Total Environ.* 205, pp. 223-234.
- Remon E., Bouchardon J-L., Cornier B., Guy B., Leclerc J-C. & Faure O., 2005 - Soil characteristics, heavy metal availability and vegetation recovery at a former metallurgical landfill: implications in risk assessment and site restoration. *Environ. Pollut.* 137, pp. 316-323.
- Simon L., Martin H.W. & Adriano D.C., 1996 - Chicory (*Cichorium intybus* L.) and dandelion (*Taraxacum officinale* Web.) as phytoindicators of cadmium contamination. *Water Air Soil Poll.* 91, pp. 351-362.
- Shu W.S., Ye Z.H., Zhang Z.Q., Lan C.Y. & Wong M.H., 2005 - Natural colonization of plants on five lead/zinc mine tailings in Southern China. *Restor. Ecol.* 13, pp. 49-60.
- Tessier A., Campbell P.G.C. & Bisson, M., 1979 - Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.* 51, pp. 844-851.
- Tordoff G.M., Baker A.J.M. & Willis A.J., 2000 - Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. *Chemosphere* 41, pp. 219-228.
- Weber H.E., Moravec J. & Theurillat J.P., 2000 - International code of phytosociological nomenclature, third edition. *J. Veg. Sci.* 11, pp. 739-768.
- Zarcinas B.A., Cartwright B. & Spouncer L.R., 1987 - Nitric acid digestion and multi-element analysis of plant material by inductively coupled plasma spectrometry. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 18, pp. 131-146.

