

DISS. ETH No. 25449

Environmental impacts of mine waste contamination in a river floodplain: Arsenic plant uptake, effects on microbial communities, and reductive solubilization

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by
MICHAEL SIMMLER
MSc ETH Umwelt-Natw., ETH Zurich

born on 08.01.1987
citizen of Schaffhausen (SH)

Prof. Dr. Ruben Kretzschmar, examiner
Dr. Iso Christl, co-examiner
Dr. Beat Frey, co-examiner

2018

Abstract

Many riverine floodplains downstream of active or abandoned metal sulfide mines are contaminated with potentially hazardous metal(loid)s, including arsenic (As), lead (Pb), zinc (Zn), and copper (Cu). Large-scale decontamination is typically not feasible and management of the contaminated land must focus on fostering natural attenuation processes and formulating land use guidelines and restrictions. This should be based on knowledge about the mobility and bioavailability of the metal(loid) contaminants. However, these characteristics are dynamically governed by still poorly understood complex mutual interactions between the metal(loid)s, the abiotic soil components, and the below- and aboveground biota. This thesis tackled this complexity and investigated some of those interactions in order to contribute to a better knowledge base for the management of contaminated land. The Ogosta River floodplain in Bulgaria served as the study site. Its circumneutral soils are heavily contaminated with mine waste released through direct discharge of slurries and a mine tailings dam failure. The focus of this thesis lied on As as the primary contaminant, but the attention was also directed towards the co-contaminants Pb, Zn, and Cu. Three main research aspects were addressed: First, the transfer of As from soil into the vegetation. Its understanding is important as plant uptake is a route for metal(loid)s to enter the food web. Second, the effects of the metal(loid) contamination on the structure and diversity of the soil microbial communities. Knowing these effects is important as soil biodiversity and functionality are linked. Third and last, the biogeochemical controls of arsenic solubility under dynamic soil redox conditions. These are critical as shifts in microbial metabolism associated with dynamics in redox conditions can change the solubility of As, potentially elevating the risk to the ecosystem.

The first two research aspects were investigated in field studies along a 700 m long soil transect that exhibited an extreme gradient in contamination with metal(loid)-containing mine waste. Soil and plant samples were collected after a prolonged non-flooded period during which the soils were well aerated. Concentrations of As in soil ranged from <50 mg to >10 g per kg. Compared to literature values, the As transfer from soil to the aboveground biomass of the pasture plants *Trifolium repens* and *Holcus lanatus* was low ($As_{\text{shoot}}/As_{\text{soil}} < 0.07$). No visual phytotoxicity symptoms were observed. Transfer of phosphorus (P) to the biomass was not disturbed, despite extreme As:P ratios in the easily extractable fractions in soil ranging to up to 2.6 (Olsen extract). Cows grazing these plants would likely take in more As via plant-adhered soil rather than via the plant biomass. Total soil microbial biomass was hardly affected by the contamination with

the metal(loid)-containing mine waste (soil DNA as proxy). The soil prokaryotic communities, as analyzed by *16S rRNA* amplicon sequencing, tended to be more diverse at higher contamination levels; slightly higher OTU richness and a pronounced increase in community evenness was observed. Mild toxicity might have caused richer and more even communities through impairment of competitive abilities of dominant OTUs.

The third research aspect, the solubility of As under dynamic redox conditions, was investigated in laboratory experiments. Using 65 representative soils from the Ogosta floodplain, microcosm experiments were conducted, simulating flooding events of up to 41 days duration. The solubility of As increased strongly when anoxic conditions established in the flooded soils. Microbially-driven reductive dissolution of As-bearing Fe(III)-oxyhydroxides was the main cause for high solubilization. More As was solubilized in topsoils (0–20 cm) as compared to subsoils (20–40 cm) with similar level of contamination. This was explained by the limited availability of nutrients in subsoils, most likely organic C as energy source for microbial metabolism. Temperature and manganese contents were identified as further influential factors. Higher temperature (10–25 °C) was found to increase and high soil manganese to decrease As solubilization.

This thesis demonstrates that in non-flooded floodplain soils with circumneutral pH and rich in Fe(III)-oxyhydroxides, As and heavy metal co-contaminants interact only weakly with the soil microorganisms and plants, due to their low solubility under these geochemical conditions. However, the increase in As solubility observed in the flooding experiments suggests that this low-risk situation is confined to non-flooded, oxic soil conditions. The flooding dynamics and the identified (redox) processes which can enhance solubility and presumably mobility and bioavailability of the metal(loid)s should be considered in the risk assessment of metal(loid)-contaminated floodplains.

Zusammenfassung

Viele Flussauen sind durch sulfidische Minenabfälle mit hohen Gehalten an potentiell giftigen Metall(oid)en wie Arsen (As) oder Blei (Pb) kontaminiert. Weil eine Dekontamination grosser Flächen selten machbar ist, muss sich das Management von mit Metall(oid)en kontaminierten Auen darauf konzentrieren, natürliche gefährdungsreduzierende Prozesse zu fördern und Leitlinien und Nutzungseinschränkungen zu formulieren. Das dazu benötigte Wissen über Mobilität und Bioverfügbarkeit der (aus toxikologischer Sicht) relevanten Metall(oid)en ist jedoch nur beschränkt vorhanden. Komplexe, wechselseitige Interaktionen zwischen den Metall(oid)en, den abiotischen Bodenkomponenten und der unter- und oberirdischen Biota spielen eine zentrale Rolle. Das Ziel dieser Doktorarbeit war es, einen Beitrag zu einem besseren Verständnis dieser Wechselwirkungen zu leisten. Als Untersuchungsstandort dienten die Auen des bulgarischen Flusses Ogosta, deren Böden stark mit Minenabfällen kontaminiert sind. Der Dambruch eines Rückhaltebeckens im Jahr 1964 und das direkte Einleiten von Minenschlämmen ins Flusssystem bis 1979 sind hauptverantwortlich für die Kontamination. Der Fokus dieser Doktorarbeit liegt auf dem Hauptschadstoff As, den Begleitschadstoffen Pb, Zn, und Cu wird jedoch auch Beachtung geschenkt. Drei Forschungsaspekte wurden untersucht: Erstens, der Transfer von As vom Boden in die Vegetation. Diesen zu verstehen ist wichtig, da Metall(oid)e durch die Aufnahme in Pflanzen in die Nahrungskette gelangen. Zweitens, Effekte der Metall(oid)-Kontamination auf die Struktur und Diversität der mikrobiellen Gemeinschaften im Boden. Kenntnis dieser ist insbesondere wichtig, da die Biodiversität der Bodenmikroorganismen mit der Funktionalität des Bodens in Zusammenhang steht. Drittens, die biogeochemische Regulierung der Löslichkeit von As unter dynamischen Bodenredoxbedingungen. Diese zu verstehen ist von Bedeutung, da mikrobielle Prozesse unter dynamischen Redoxbedingungen die Löslichkeit von As im Boden und somit das Gefährdungspotential verändern können.

Die ersten zwei Forschungsaspekte wurden in Feldstudien entlang eines 700 m langen Bodentransekts mit einem starken Metall(oid)-Gradienten untersucht. Boden- und Pflanzenproben wurden nach einer mehrmonatigen Periode ohne Überflutung, d.h. bei guter Bodendurchlüftung, genommen. Die Konzentration von As im Boden bewegte sich zwischen <50 mg und >10 g pro kg. Verglichen mit Literaturwerten war der Transfer von As aus dem Boden in die oberirdische Biomasse der Weidepflanzen *Trifolium repens* und *Holcus lanatus* niedrig ($As_{\text{Spross}}/As_{\text{Boden}} < 0.07$). Optische Merkmale von Phytotoxizität waren nicht zu erkennen. Der Transfer von Phosphor (P) in die oberirdische Pflanzenbiomasse war nicht gestört, trotz extremer As:P Verhältnisse in der leicht

extrahierbaren Fraktion im Boden von bis zu 2.6 (Olsen Extrakt). Weidende Kühe würden beim Grasens dieser Pflanzen höchstwahrscheinlich mehr As über oberflächlich den Pflanzen anhaftenden Boden aufnehmen als über die eigentliche Pflanzenbiomasse. Die mikrobielle Biomasse im Boden war durch die Kontamination mit Metall(oid)-haltigen Mineralabfällen quantitativ kaum verändert (Boden-DNA als Proxy). Die prokaryotischen bodenmikrobiellen Gemeinschaften, analysiert mit *16S rRNA* Amplikon-Sequenzierung, tendierten zu höherer Diversität mit zunehmender Kontamination; leicht erhöhte Anzahl operationeller taxonomischer Einheiten (engl. OTU Richness) und ein ausgeprägter Anstieg der Äquität (engl. Evenness) war beobachtbar. Dieser Anstieg der Diversität könnte auf eine toxizitätsbedingte Verminderung der Kompetitivität von dominanten OTUs zurückzuführen sein.

Der dritte Forschungsaspekt, die Löslichkeit von As unter dynamischen Bodenredoxbedingungen, wurde in Laborexperimenten untersucht. Dazu wurden Überflutungsereignisse mit einer Dauer von bis zu 41 Tagen in Mikrokosmen mit 65 repräsentativen Böden aus den Ogošta Auen simuliert. Sobald sich anoxische Bedingungen einstellten, stieg die As-Löslichkeit stark an. Die mikrobiell angetriebene, reduktive Auflösung von As-haltigen Fe(III)-Oxyhydroxiden war die Ursache der Freisetzung von gelöstem As. In Oberböden (0–20 cm) lief dieser Prozess intensiver ab als in Unterböden mit ähnlichem Kontaminationsgrad, was auf die in Oberböden höhere Verfügbarkeit von organischem Kohlenstoff als Energielieferant für den mikrobiellen Metabolismus zurückzuführen ist. Als weitere wichtige Einflussfaktoren wurden die Bodentemperatur und der Mangangehalt der Böden identifiziert. Mit steigender Temperatur (10–25 °C) intensivte sich die As-Freisetzung. Hohe Mangangehalte wirkten hingegen hemmend.

Diese Doktorarbeit zeigt, dass in nicht überfluteten Auenböden mit neutralem pH und hohem Gehalt an Fe(III)-Oxyhydroxiden, As und Schwermetalle nur schwach mit Bodenmikroorganismen und Pflanzen interagieren, da sie unter diesen bodenchemischen Bedingungen nur spärlich löslich sind. Der beobachtete Anstieg der As-Löslichkeit in den Überflutungsexperimenten deutet jedoch darauf hin, dass diese Situation mit tiefem Gefährdungspotential auf nicht überflutete, oxische Bedingungen beschränkt ist. Das hydrologische Regime, die davon abhängige Dynamik der Bodenredoxbedingungen und die identifizierten Faktoren, welche den mikrobiellen Antrieb der reduktiven Freisetzung regulieren, sollten in der Risikobewertung von mit Metall(loid)en kontaminierten Auen berücksichtigt werden.