

Université de Montréal

**Phytoextraction d'éléments traces
à l'aide du saule et de mycorhizes**

par Catherine Mercier

Département de Géographie
Faculté des Arts et Sciences

Mémoire présenté
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.)
en géographie

[Septembre 2016]

© Catherine Mercier, 2016

Résumé

La phytoremédiation s'impose depuis peu comme une alternative de décontamination des sols accessible et soucieuse de l'environnement. Le projet présenté ici a permis de tester, en serre, un traitement sur des sols modérément contaminés aux éléments traces (ET) (Cd, Cu, Pb et Zn), et comportant deux niveaux de contamination organique. L'étude, imbriquée au projet *Génorem*, a été réalisée à l'aide de plants de *Salix purpurea* et de mycorhizes *Glomus irregulare*. Les objectifs étaient 1) d'étudier l'effet de la présence des mycorhizes introduites sur le processus d'absorption des ET, ainsi que l'efficacité générale du traitement ; 2) de déterminer l'influence des processus de transfert et de mise en solution des ET au sein de la rhizosphère sur leur taux d'accumulation par les plantes, et 3) de mesurer l'impact des caractéristiques des sols et de la contamination organique sur la phytoextraction. La présence des mycorhizes inoculées n'a été perceptible ni sur l'accumulation et le transfert des ET, ni sur la production de biomasse. Seules les concentrations solubles de Cu et de Pb se sont avérées moins importantes dans la rhizosphère des sols inoculés que dans la matrice de sol. La performance des plants quant à leur niveau d'accumulation s'est avérée intéressante pour le Cd (moyennes de 2,80 à 10,1 mg/kg) et le Zn (de 54,1 à 410 mg/kg). Ces éléments se sont accumulés surtout dans les parties aériennes des plantes, alors que le Cu et le Pb ont plutôt été stockés dans les racines. Les concentrations solubles avaient pour la plupart augmenté entre le début et la fin de l'expérience, et les différences entre ces concentrations et les concentrations totales, dans la rhizosphère et la matrice, ont démontré que le temps de réponse du sol pour fournir aux plantes les éléments biodisponibles n'était pas un facteur limitant du système dans la plupart des cas. Les concentrations initiales totales dans les sols ont été corrélées à celles dans les parties des plantes uniquement pour le Cu dans les tiges ($R^2 : 0,54$) et les racines ($R^2 : 0,58$) des saules. Les facteurs de fertilité ont permis d'expliquer une part de la variance des concentrations (10 % du total de 25 % pour le Cd, 49 % du total de 36 % pour le Cu-aérien, et 28 % du total de 71 % pour le Cu-souterrain) et des quantités (15 % du total de 30 % pour le Cd) accumulées. La contamination mixte (organique et inorganique) n'a pas entravé l'extraction des ET, ni la dégradation des composés organiques.

Mots-clés : Phytoremédiation, mycorhizes, saules, sol contaminé, éléments traces

Abstract

Phytoremediation is a relatively new, low cost and environmentally friendly alternative method to decontaminating soils. This research, which involved *Salix purpurea* plants and *Glomus irregulare* mycorrhizae, was conducted through the *Génorem* project in a greenhouse. We tested a treatment on soils, which were contaminated with moderate amounts of trace elements (TE) (Cd, Cu, Pb and Zn), as well as with organic compounds (on two levels of concentration). The objectives were 1) to study the effect of the introduced mycorrhizae on TE's absorption process, as well as the general treatment efficiency; 2) to determine the influence of TE transfer and solubilization processes at work within the rhizosphere on their accumulation rates by the plants, and 3) to measure the impact of soil characteristics as well as the organic contamination on phytoextraction. The presence of inoculate mycorrhizae was not noticeable on the accumulation or transfer of TE, nor was it on the biomass production. However, soluble concentrations of Cu and Pb were less important in the soil rhizosphere of the inoculated soils than in the soil matrix. Plants performance in regard to their accumulation was considerable for Cd (average of 2,80 to 10,1 mg / kg) and Zn (from 54.1 to 410 mg / kg). These elements were mainly accumulated in aboveground tissues, while Cu and Pb were instead stored in the roots. Additionally, most of the soluble concentrations had increased between the beginning and the end of the experiment. This, combined with the differences between the soluble and total-recoverable concentrations in the rhizosphere and the matrix, showed that the soil's response in terms of time to provide bioavailable TE to plants was not a limiting factor of the system in most cases. Total initial soil concentrations were only correlated to concentrations plant tissues in the case of Cu within stems ($R^2 : 0,54$), and within roots ($R^2 : 0,58$). Fertility and availability factors allowed to explain parts of the variance in concentrations (10% of the total 25% for Cd, and 49% of the total 36% for Cu-aboveground, and 28% of the total 71% for Cu-aboveground), and content (15% of the total 30% for Cd) accumulated. Mixed contamination (organic and inorganic) did not significantly impede the TE extraction, neither the organic compounds degradation.

Keywords : Phytoremediation, mycorrhizae, willow, contaminated soil, trace elements

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract	ii
Table des matières	iii
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations et symboles.....	xii
Remerciements	xvi
1. Introduction	1
1.1 Contexte de recherche	1
1.1.1 État de la situation des sols contaminés.....	1
1.1.2 Types de contamination	2
1.1.3 Définition et sources des éléments traces	2
1.1.4 Méthodes traditionnelles de décontamination	4
1.1.5 Règlements sur les sols contaminés au Québec.....	5
1.2 Le système sol - plante - éléments traces.....	6
1.2.1 Les éléments traces dans les plantes	6
1.2.2 Mécanismes d'absorption des éléments traces.....	8
1.2.3 Relations symbiotiques entre les plantes et les champignons.....	10
1.2.4 Mécanismes de tolérance des plantes face aux éléments traces	13
1.2.5 Espèces hyperaccumulatrices.....	14
1.2.6 Facteurs influençant l'absorption des éléments traces.....	15
1.2.6.1 Biodisponibilité des éléments traces.....	15
1.2.6.2 Spéciation des éléments traces.....	18
1.2.6.3 Caractéristiques du sol	18

1.3 Principe de phytoextraction	20
1.3.1 La phytoextraction au sein des méthodes de phytoremédiation	20
1.3.2 La phytoextraction des éléments traces	21
1.3.2.1 Gestion de la biomasse produite	22
1.3.2.2 Sites et cas ciblés pour la phytoextraction	22
1.3.3 L'apport des champignons mycorhiziens à la phytoremédiation	23
1.3.4 Choix de la plante phytoremédiatrice	26
1.3.4.1 Espèces ligneuses à croissance rapide	27
1.3.4.2 Efficacité du genre <i>salix</i>	28
1.3.5 Phytoextraction sur des sites de contamination mixte	29
1.3.5.1 Caractéristiques de la contamination organique	29
1.3.5.2 La phytodégradation des contaminants organiques	29
1.3.5.3 La phytoremédiation en milieu de contamination mixte	31
1.3.6 Durée de la phytoremédiation.....	32
1.3.7 Avantages et limites de la phytoextraction	33
2. Objectifs.....	36
3. Méthodologie.....	38
3.1 Expérience en serre.....	38
3.1.1 Échantillonnage du sol.....	38
3.1.2 Choix du matériel.....	38
3.1.3 Dispositif expérimental.....	39
3.1.4 Conditions expérimentales.....	40
3.1.5 Échantillonnage.....	41
3.2 Analyses en laboratoire	41
3.2.1 Préparation des échantillons	41
3.2.2 Concentration des éléments traces dans le sol	42
3.2.3 Concentrations des éléments traces dans les plantes	43

3.2.4 Analyses physiques et chimiques du sol.....	44
3.3 Traitement statistique des données	45
3.3.1 Analyses quantitatives	46
3.3.2 Calculs des ratios de concentrations des éléments traces	46
3.3.3 Calculs de l'effet des facteurs étudiés	47
3.3.4 Calculs multivariés de l'effet des facteurs.....	48
3.3.5 Calculs multivariés canoniques discriminants.....	48
3.3.6 Calculs de l'effet des propriétés du sol.....	49
4. Résultats	50
4.1 Les sols	50
4.1.1 Portrait physique et chimique des sols aux T0 et T1	50
4.1.2 Les contaminants organiques.....	53
4.1.3 Éléments traces solubles à l'H ₂ O dans les sols.....	55
4.1.3.1 Concentrations	55
4.1.3.2 Quantités	58
4.1.4 Éléments traces extraits à l'HNO ₃ dans les sols	61
4.1.4.1 Concentrations	61
4.1.4.2 Quantités	66
4.1.5 Effet des mycorhizes (G+ vs G-).....	69
4.1.6 Effet de la contamination organique (C+ vs C-).....	71
4.1.6.1 Concentrations solubles	71
4.1.6.2. Concentrations totales.....	71
4.1.7 Décontamination totale	72
4.2 Les plantes	73
4.2.1 Biomasse produite.....	73
4.2.2 Concentrations d'éléments traces extraits à l'HNO ₃ dans les plantes	74
4.2.3 Quantités totales d'éléments traces dans les plantes.....	82
4.2.4 Impact des propriétés des sols sur l'absorption des TE par les plantes	88
4.3 Sommaire des résultats.....	91

5. Discussion	93
5.1 Absorption des éléments traces.....	93
5.1.1 Concentrations d'éléments traces dans les plantes	93
5.1.2 La distribution des éléments traces dans les plantes.....	96
5.1.3 Effet de la rhizosphère	98
5.1.4 Relation entre les accumulations d'ET dans les plantes et les concentrations dans le sol.....	101
5.1.4.1 Partition de la variance et régressions linéaires	101
5.1.4.2 Facteurs de concentration biologique	102
5.2 Mécanismes de phytoextraction.....	104
5.2.1 Effets de l'inoculation des mycorhizes	104
5.2.2 Effets de la contamination organique (sols C+/C-)	106
5.2.3 Effets des caractéristiques des sols	108
5.2.3.1 Conditions initiales des sols.....	108
5.2.3.2 Transfert des éléments traces non labiles à labiles	108
6. Conclusion	111
6.1 Retour sur les objectifs et les résultats.....	111
6.2 Limites de l'étude	114
6.3 Les perspectives pour la phytoremédiation à l'aide des saules.....	115
Bibliographie	118

Liste des tableaux

Tableau 1-1: Description des critères génériques concernant la présence des contaminants dans les sols du Québec (adapté de MDDELCC, 2015).....	6
Tableau 1-2: Concentrations maximales des éléments traces dans les sols pour chacun des critères génériques dans le Secteur géologique des Basses-Terres du Saint-Laurent (adapté de MDDELCC, 2015).....	6
Tableau 1-3: Concentrations approximatives d'éléments traces dans les tissus foliaires matures généralisés pour une variété d'espèces végétales communes (Kabata-Pendias, 2001, Stevenson, 1999).....	7
Tableau 1-4: Concentrations maximales des composés organiques dans le sol pour les trois critères génériques (adapté de MDDELCC, 2015).....	29
Tableau 1-5: Années requises pour réduire de moitié la concentration d'un contaminant dans les sols par phytoextraction selon deux taux initiaux d'extraction (adapté de Robinson et al, 2009).....	32
Tableau 1-6: Années nécessaires pour réduire de 5 mg/kg la teneur en Cd d'un sol avec une plantation de <i>Salix sp.</i> à différentes profondeurs, calculées selon des taux constants d'absorption dans les parties aériennes des plantes (adapté de Dickinson et Pulford, 2005) ...	33
Tableau 3-1: Limites de détection des méthode de mesure en fonction des éléments traces et des composés organiques.....	45
Tableau 4-1: Moyennes (X) et écarts-types (sd) des caractéristiques physiques et chimiques des sols pour chaque traitement (n=6, sauf C- G+ où n=5) au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1).....	52
Tableau 4-2: Concentrations moyennes et écarts-types (mg/kg) des composés organiques dans la matrice des sols au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1).....	54
Tableau 4-3: Moyennes et écart-type des concentrations en éléments traces solubles dans H ₂ O dans les sols au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1) (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	55
Tableau 4-4: Quantités moyennes et écarts-types (n=6) en éléments traces solubles dans l'H ₂ O dans les sols au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1)	59
Tableau 4-5: Moyennes et écarts-types (n=6) des concentrations en éléments traces extraits à l'acide (HNO ₃) dans les sols au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1)	62

Tableau 4-6 : Résultats d'ANOVA à deux facteurs pour évaluer la différence entre les concentrations d'éléments traces extraits à l'HNO ₃ dans les sols avant et après l'expérience (facteur Temps), entre la rhizosphère et la matrice (facteur Compartiment), et l'interaction entre ces deux facteurs.	63
Tableau 4-7: Quantités moyennes et écarts-types (n=6) en éléments traces extraits à l'acide (HNO ₃) au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1).....	67
Tableau 4-8: Résultats d'ANOVA à deux facteurs pour évaluer l'effet de l'ajout de mycorhizes (G) et de la contamination organique du sol (C), et de leur interaction (G*C), sur les concentrations biodisponibles (H ₂ O) et totales (HNO ₃) en ET dans la matrice et la rhizosphère du sol après l'expérience.....	70
Tableau 4-9: Biomasses totales moyennes et écarts-types des plants à T1 selon les traitements (n=6, sauf n=5 pour G+ C-)	74
Tableau 4-10: Moyennes et écarts-types (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-) des concentrations en ET extraits à l'acide (HNO ₃) dans les plantes après l'expérience	75
Tableau 4-11: Facteurs de bioconcentration (FCB) pour l'ensemble du plant et pour les feuilles, et ratio des concentrations des parties aériennes sur les parties souterraines (Ratio A/S).....	77
Tableau 4-12: Résultats d'ANOVA à deux facteurs pour évaluer la différence entre les facteurs contamination (C) et mycorhize (G), et leur interaction sur l'ensemble des concentrations des éléments traces dans les plantes	82
Tableau 4-13: Moyennes et écarts-types (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-) des quantités en éléments traces extraits à l'acide (HNO ₃) dans les plantes après l'expérience.....	83
Tableau 4-14: Sens de la relation et coefficients R ² entre les concentrations d'ET extrait à l'HNO ₃ dans les trois compartiments des plantes à T1 et les concentrations totales dans la matrice à T0	88
Tableau 4-15: Partition de la variance des régressions linéaires multiples entre, d'une part, les concentrations et les quantités d'ET extraites à l'HNO ₃ dans les tissus des plantes et d'autre part les concentrations extraites à l'HNO ₃ à T0 dans les sols (X1), les propriétés chimiques liées à la fertilité des sols (X2), la présence d'oxydes (X3), et leurs interactions. Seules les variables significatives sont présentées.	90
Tableau 5-1: Exemples de moyennes ou d'étendues des concentrations d'éléments traces accumulés par diverses variétés de <i>Salix</i> au sein d'études de phytoremédiation récentes.	95

Liste des figures

Figure 1-1: Représentation schématique des combinaisons possibles entre le pouvoir tampon du sol (Kd), la concentration dans la solution de sol, la taille de la phase labile et le temps de réponse (Adapté de Wenzel, 2009).....	17
Figure 3-2: Schéma du dispositif expérimental en serre. Les ‘x’ et les ‘E’ représentent chacun des pots, et les ‘E’ représentent spécifiquement les pots échantillonnés pour cette étude.	40
Figure 4-1: Concentrations moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'H ₂ O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	56
Figure 4-2: Concentrations moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'H ₂ O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	56
Figure 4-3: Concentrations moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'H ₂ O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	57
Figure 4-4: Concentrations moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'H ₂ O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	58
Figure 4-5: Quantités moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'H ₂ O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	59
Figure 4-6: Quantités moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'H ₂ O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	60
Figure 4-7: Quantités moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'H ₂ O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	60
Figure 4-8: Quantités moyennes et écarts-types de Zn soluble à l'H ₂ O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	61
Figure 4-9: Concentrations moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'HNO ₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	62
Figure 4-10: Concentrations moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'HNO ₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	64
Figure 4-11: Concentrations moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'HNO ₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	65
Figure 4-12: Concentrations moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'HNO ₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	66

Figure 4-13: Quantités moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'HNO ₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	67
Figure 4-14: Quantités moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'HNO ₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	68
Figure 4-15: Quantités moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'HNO ₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	68
Figure 4-16: Quantités moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'HNO ₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	69
Figure 4-17: Pourcentages moyens et écarts-types du taux de décontamination en quantités d'éléments traces extraits à l'HNO ₃ entre T0 et T1 pour le total des échantillons (n = (3 traitements * 6 pots) + (1 traitement * 5 pots) + 3 pots contrôles C+ et 3 pots contrôles C- = 29 pots), et pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	72
Figure 4-18: Biomasses moyennes et écarts-types des parties des plantes pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	74
Figure 4-19: Concentrations moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'HNO ₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-). Les lignes horizontales à 1,5 et 5 mg/kg représentent respectivement les critères A et B du MDDELCC (MDDELCC, 2015).	76
Figure 4-20 : Concentrations moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'HNO ₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).78	
Figure 4-21: Concentrations moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'HNO ₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).78	
Figure 4-22: Concentrations moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'HNO ₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-). Les lignes horizontales à 110 et 500 mg/kg représentent respectivement les critères A et B du MDDELCC (MDDELCC, 2015).	79
Figure 4-23: Distribution des observations résultant de l'analyse discriminante linéaire (LDA) effectuée sur les concentrations d'ET (Cd, Cu, Pb et Zn) extraits à l'HNO ₃ dans les différents compartiments des plantes à T1. Les ellipses représentent la région de probabilité au seuil de 95 %. L'encart présente la corrélation entre les variables utilisées.	81
Figure 4-24: Quantités totales moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'HNO ₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).....	83

Figure 4-25: Partition entre les composantes aériennes et souterraines des plantes de la quantité totale moyenne de Cd extrait à l'HNO ₃ des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	84
Figure 4-26: Quantités totales moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'HNO ₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	85
Figure 4-27: Partition entre les composantes aériennes et souterraines des plantes de la quantité totale moyenne de Cu extrait à l'HNO ₃ des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	85
Figure 4-28: Quantités totales moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'HNO ₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	86
Figure 4-29: Partition entre les composantes aériennes et souterraines des plantes de la quantité totale moyenne de Pb extrait à l'HNO ₃ des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	86
Figure 4-30: Quantités totales moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'HNO ₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	87
Figure 4-31: Partition entre les composantes aériennes et souterraines des plantes de la quantité totale moyenne de Zn extrait à l'HNO ₃ des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)	87
Figure 4-32 : Régression linéaire entre les concentrations de Cu extrait à l'HNO ₃ à T0-matrice et à T1 dans les tiges des plantes. Le R ² représente la valeur du coefficient de variation	88
Figure 4-33 : Régression linéaire entre les concentrations de Cu extrait à l'HNO ₃ à T0-matrice et à T1 dans les racines des plantes	89
Tableau 4-15: Partition de la variance des régressions linéaires multiples entre, d'une part, les concentrations et les quantités d'ET extraites à l'HNO ₃ dans les tissus des plantes et d'autre part les concentrations extraites à l'HNO ₃ à T0 dans les sols (X1), les propriétés chimiques liées à la fertilité des sols (X2), la présence d'oxydes (X3), et leurs interactions. Seules les variables significatives sont présentées.	90

Liste des abréviations et symboles

α : seuil de signification

ANOVA : analyse de variance

Ag : argent

Al : aluminium

As : arsenic

Au : or

B : bore

BaCl₂ : chlorure de baryum

BPC : biphényles polychlorés

C⁺ : sol contaminé par des composés organiques

C⁻ : sol non contaminé par des composés organiques

Ca : calcium

Cd : cadmium

CÉ : conductibilité électrique

CEC : capacité d'échange cationique

Co : cobalt

Corg : carbone organique

Cu : cuivre

Cr : chrome

EDDS : *Ethylenediamine-N,N'-disuccinic acid*

EDTA : acide éthylène diamine tétraacétique

ET : élément trace

FCB : facteur de concentration biologique

Fe : fer

FeSO₄ : sulfate ferreux

G⁺ : sol inoculé avec la mycorhize *Glomus irregulare*

G⁻ : sol sans inoculation de la mycorhize *Glomus irregulare*

Ge : germanium

H₂O : eau
H⁺ : ion hydrogène
Ha : hectare
HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques
HCP : hydrocarbures pétroliers
Hg : mercure
HNO₃ : acide nitrique
ICP-MS : *inductively coupled-plasma mass spectrometry*
K : potassium
K_d : indice de capacité tampon du sol
K₂Cr₂O₇ : dichromate de potassium
LDA : analyse multivariée canonique discriminante (*linear discriminant analysis*)
LDM : limite de détection de la méthode
MA : mycorhize arbusculaire (endomycorhize)
Ma : matrice de sol
MANOVA : analyse de variance multivariée
MDDELCC : Ministère du Développement durable, de l'Environnement, et de la Lutte contre les changements climatiques (Québec)
Mg : magnésium
Mn : manganèse
MO : matière organique
Mo : molybdène
n : nombre d'observations
N : azote
Na : sodium
Ni : nickel
Pb : plomb
pH : potentiel hydrogène
ppm : partie par million
R² : coefficient de détermination
ratio A/S : ratio des concentrations aériennes sur les concentrations souterraines

Rz : rhizosphère

S : soufre

Sb : antimoine

sd : écart-type

Se : sélénium

Si : silicium

T0 : temps initial, avant l'expérience

T1 : temps final, après l'expérience

Te : tellure

Ti : thallium

U : uranium

X : moyenne

Zn : zinc

« Dans la nature, la symbiose apparait comme un succès de l'évolution, alors que la prédation et le parasitisme constituent des façons primitives d'échapper à la compétition. »

J. André Fortin

Remerciements

La fin de ce mémoire marque l'aboutissement d'une période marquante et enrichissante, longue et déroutante. Merci tout d'abord à mon directeur François Courchesne pour ses connaissances et son support, mais aussi pour son incroyable patience et sa compréhension. Merci à Marie-Claude Turmel du Laboratoire de pédologie, sans qui cette maîtrise n'aurait sans doute pas été possible. Son talent pour préparer un terrain, mener des expériences en laboratoire et transmettre son expertise aux étudiants a contribué à faire de mon cheminement une expérience mémorable. Merci également à Benoit Cloutier-Hurteau, qui est arrivé dans l'équipe comme par magie, avec son savoir, ses conseils et sa bonne humeur. On espère te retrouver bientôt en très grande forme et avec ton appétit légendaire ! Merci aux collègues Simon Constantineau et Gilbert Tremblay, pour leur aide sur le terrain et en laboratoire et leur présence, et à ceux qui ont contribué de près ou de loin à la collecte de données et à la vie de l'équipe de recherche ; Caroline L'Heureux, Nicolas Wagner, Fougère Augustin, Richard Labrie, Julie et Joanie Labonté. Merci aux collègues géographes qui ont ensoleillé le Strathcona. Merci aux camarades militants croisés dans la rue et dans les assemblées générales qui ont été si inspirants.

Merci à mes merveilleux parents Micheline et Jean qui m'ont toujours encouragée, et qui ont cru en moi. Merci de m'avoir donné les moyens de me rendre aussi loin, mais aussi l'envie d'y être. Merci à ma sœur Nathalie, et à son adorable Raphaël, pour leur présence. Merci à mes amis qui m'ont écoutée et qui m'ont fait rire, et qui ont compris quand j'annulais les plans à la dernière minute ou quand je n'étais pas disponible. Merci spécial à mon copain Rodolphe (et félicitations pour son doctorat maintenant complété !) qui m'a soutenue, accompagnée, et qui m'a rendu la vie plus belle.

Merci finalement à tous ceux et celles qui se sont battu-e-s avant moi pour que j'aie l'opportunité d'être sur les bancs d'école aujourd'hui. Merci à ceux et à celles qui continuent de se battre pour une société plus juste et plus humaine, et qui gardent espoir malgré la facilité du cynisme et de l'indifférence.

1. Introduction

1.1 Contexte de recherche

Afin de bien saisir le rôle et le fonctionnement de la phytoremédiation, il importe d'abord de comprendre le contexte de la nécessité et des enjeux liés à la décontamination des sols.

1.1.1 État de la situation des sols contaminés

Sans l'interférence de l'activité humaine, la géochimie des sols et les variations de contenus en éléments traces sont principalement assujetties à la nature de la roche mère et aux processus d'altération qui y ont cours. Les progrès des sciences et technologies nous ont toutefois permis d'exploiter les ressources naturelles dans une si large mesure que cela a généré des perturbations sans précédent dans les cycles des éléments globaux. L'introduction relativement récente de produits chimiques toxiques anthropiques et la délocalisation massive de matériaux naturels à différents compartiments de l'environnement (sols, eaux souterraines, atmosphère) exercent une forte pression sur les capacités de résilience et de régulation des écosystèmes destinataires (Kidd et al., 2009, Susarla et al., 2002). Plusieurs types de contaminants s'accumulent maintenant dans les sols, tels les métaux lourds, dont la toxicité sur les espèces végétales et animales proviendrait surtout de leur capacité mutagène sur l'ADN. La restauration de plusieurs sites contaminés s'impose afin de récupérer ces terrains rendus inutilisables et de restreindre l'entrée potentielle d'éléments toxiques dans les organismes vivants, et dans la chaîne alimentaire (Singh & Prasad, 2011).

Le problème des sols contaminés aux métaux atteint dans tous les pays industrialisés une ampleur dépassant les dizaines de milliers de sites. Les estimations les plus conservatrices en dénombrent, par exemple, 80 000 en Allemagne et 50 000 aux États-Unis (Memon & Schroder, 2009). Au Canada, on compterait entre 20 000 et 30 000 terrains contaminés, et une estimation des coûts de décontamination dépassant les 20 milliards (Tsao & Banks, 2003).

Ces terrains délaissés, autrefois utilisés à des fins commerciales ou industrielles, présentent, en plus de leur contamination, des conditions de sol peu enviables pour supporter la croissance de plantes. En effet, un niveau de compactage élevé, une faible capacité de rétention d'eau et un apport nutritionnel ténus les caractérisent généralement (French et al., 2006).

1.1.2 Types de contamination

Les contaminants sont classés selon deux grandes catégories : organiques et inorganiques. Les contaminants organiques englobent une très grande diversité de composés chimiques qui sont pour la plupart d'origine humaine, ou introduits dans l'environnement à la suite d'activités humaines. Constitués à base de carbone, ils s'avèrent généralement toxiques pour les organismes, voire cancérigènes. Ces contaminants sont libérés par une multitude d'activités : transport, déversements de carburants ou de solvants ; activités militaires (explosifs et armes chimiques) ; agriculture (pesticides et herbicides) ; industries chimique et pétrochimique, traitement du bois, etc. (Batty & Dolan, 2011).

Les contaminants inorganiques sont les métaux et métalloïdes, à base minérale, qui se retrouvent naturellement dans la croûte terrestre ou l'atmosphère. Les activités humaines ont toutefois contribué à rejeter dans l'environnement et à concentrer d'importantes quantités de ces éléments, menant à des niveaux toxiques. Contrairement aux substances organiques, la majorité des contaminants inorganiques ne peuvent être dégradés en composés plus simples. Cela rend donc impossible leur retrait complet de l'environnement, il faut plutôt penser en termes de transport, de transformation ou de stabilisation pour ce qui est de leur gestion (Batty & Dolan, 2011, Pilon-Smits, 2005).

1.1.3 Définition et sources des éléments traces

Selon la définition pédologique, les éléments sont définis comme étant « traces » en fonction de leur concentration dans le sol, soit lorsque celle-ci est généralement inférieure à

0,1 % de la masse, ou 100 mg/kg. Pour ce qui est de la solution de sol, la concentration limite est de 10^{-4} mol/L, alors que pour la biomasse végétale la définition inclut les éléments dont la concentration est inférieure à 0,01 % de l'organisme. Ces définitions ont toutefois des contours un peu flous, il s'agit davantage de guides que de normes strictes (Senesil et al., 1999). L'origine des éléments traces (ET) dans les sols est liée à trois catégories de sources : 1) l'origine lithologique, soit ce qui est présent naturellement dans la roche mère ; 2) l'origine pédogénétique, soit les éléments originalement lithologiques, mais dont la végétation et la pédogénèse altèrent la distribution et les concentrations ; et 3) l'origine anthropique, c'est-à-dire dont la présence est due à l'activité humaine (Kabata-Pendias, 2001, L'Heureux, 2011).

Les contaminations locales rapportées dans la littérature concernent généralement les régions industrielles et peuplées. Néanmoins, les ET sont sujets à être transportés par voie aérienne sur de longues distances, et il devient ainsi plus difficile de déterminer d'une part les sources d'émission des polluants, et d'autre part l'historique naturel de la composition des sols (Kabata-Pendias, 2001). Aussi, contrairement à la majorité des contaminants organiques, ces éléments inorganiques se caractérisent par une forte persistance dans l'environnement (Kidd et al., 2009). Le sol, de par sa fonction de support, représente également un composant particulier des milieux naturels, soit un système tampon contrôlant le transport des éléments et substances chimiques vers les autres sphères ; hydrosphère, atmosphère et biosphère. Cet attribut a pour effet que les éléments y ont des temps de résidence plus élevés qu'ailleurs dans l'environnement (Kabata-Pendias, 2001).

Les sources anthropiques des ET représentent donc maintenant le principal puits de contamination, la pollution de la biosphère et des sols s'étant dramatiquement accélérée depuis le début de l'ère industrielle. On incrimine principalement la combustion des carburants fossiles utilisés pour le transport, ou qui entraînent une contamination indirecte, par les dépôts de cendres des centrales au charbon, par exemple. Le rôle de l'exploitation minière et des fonderies, avec leurs problèmes d'entreposage, de transport et de gestion des déchets et résidus, s'avère aussi substantiel. De plus, l'épandage assidu d'engrais et de fertilisants chimiques, ainsi que des boues d'épuration ont laissé aux terres arables un héritage de contamination dont les concentrations dépassent les limites déterminées par la plupart des pays

(Khan, 2005, Marques et al., 2009, Singh & Prasad, 2011, Wieshammer et al., 2007).

1.1.4 Méthodes traditionnelles de décontamination

Plusieurs méthodes de décontamination physiques, chimiques et biologiques ont été développées depuis les dernières décennies, en fonction du type de contamination des sites. Ces procédés conventionnels, qu'ils soient exécutés *ex-situ* ou *in situ*, requièrent énormément de ressources, particulièrement en main-d'œuvre, et ont comme conséquence un profond bouleversement des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques des sols traités (Khan, 2005). En outre, ces méthodes représentent des coûts imposants ; on les estime aux États-Unis à entre 7 et 8 milliards de dollars par année, dont environ 35 % impliqueraient des métaux (Memon & Schroder, 2009). Selon plusieurs auteurs, les coûts d'assainissement se chiffrent en moyenne entre 0,27 et 1,6 million par hectare de sol (Kidd et al., 2009). De surcroît, leur champ d'application se concentre davantage sur les petits espaces et elles s'avèrent souvent inadéquates pour les grands espaces, que représentent par exemple les anciens sites miniers et les friches industrielles (Khan, 2005). En outre, un grand nombre des technologies existantes ne sont pas appropriées pour les sites de pollution diffuse, où les contaminants sont superficiels et à de faibles concentrations. Ainsi, les coûts liés à la décontamination en viennent souvent à excéder la valeur même des terrains concernés, ce qui ne constitue pas un facteur incitatif à leur restauration (Batty & Dolan, 2011, Dickinson & Pulford, 2005).

La méthode de décontamination la plus communément utilisée demeure l'excavation et l'enfouissement des sols (*dig and dump*). Ce procédé, bien qu'efficace et expéditif, s'avère considérablement coûteux, soit jusqu'à 3 millions de dollars (US) par hectare de sol. De plus, cette solution ne règle pas le problème, elle ne fait que le délocaliser, et elle est inconcevable pour les sites à vocation agricole (McGrath et al., 2001). Pour ce qui est des technologies *in situ*, on retrouve d'abord le lessivage des sols, où les particules grossières (sable et gravier) sont séparées des particules fines (limon et argile). Ces dernières, sur lesquelles les contaminants sont généralement liés et absorbés, sont ensuite traitées chimiquement. On a aussi recours à la méthode de l'extraction des vapeurs du sol, qui nécessite l'installation de

puits dans la zone contaminée. Une pompe permet de faire le vide dans ces puits, afin de faire évaporer les constituants volatils des contaminants, que l'on retire ensuite par des puits d'extraction et que l'on traite. Un autre procédé utilisé par l'industrie consiste à rincer les sols en les inondant avec une solution qui déplace les contaminants vers un endroit où ils peuvent ensuite être prélevés. L'extraction se fait en injectant un autre fluide dans le sol, puis les matières récupérées sont traitées. Parmi les méthodes physiques principalement employées, il y a la stabilisation, où les contaminants sont convertis dans une forme moins soluble, mobile et toxique, afin de réduire leur risque écotoxicologique (Marques et al., 2009).

La pertinence de développer de nouvelles méthodes de décontamination s'avère donc bel et bien réelle. Le besoin de procédés moins destructeurs de l'intégrité et de la fertilité des sols, ainsi que plus accessibles financièrement explique la prolifération de la recherche portant sur la phytoremédiation depuis quelques années (Robinson et al., 2009).

1.1.5 Règlements sur les sols contaminés au Québec

La réhabilitation des sols contaminés au Québec est régie par le Ministère du Développement durable, de l'Environnement, et de la Lutte contre les changements climatiques (MDDELCC), qui a élaboré la Politique de protection des sols et réhabilitation des terrains contaminés. Des critères ont été établis pour fixer la teneur de fond, qui varie selon les cinq secteurs géologiques du Québec, et les limites acceptables selon le type d'utilisation du sol (MDDELCC, 2015). Ces critères correspondent à une certaine concentration propre à chaque élément ou composé (Tableau 1-1). La politique, développée selon une approche visant la protection de la santé humaine, vise à permettre au gouvernement de requérir une caractérisation des sols par le propriétaire du terrain. Le cas échéant, une décontamination du sol jusqu'à ce que les critères génériques soient observés peut alors être exigée. Le Tableau 1-2 présente les limites qui définissent les critères pour les éléments inorganiques étudiés dans ce projet, et selon la province géologique de provenance des sols, soit les Basses-Terres du Saint-Laurent.

Tableau 1-1: Description des critères génériques concernant la présence des contaminants dans les sols du Québec (adapté de MDDELCC, 2015)

Critères	Description
A	Teneurs de fond pour les paramètres inorganiques et limite de quantification pour les paramètres organiques. Limite maximale recommandée pour l'utilisation des sols à des fins agricoles.
B	Limite maximale acceptable pour des terrains à vocation résidentielle, récréative et institutionnelle. Sont également inclus les terrains à vocation commerciale situés dans un secteur résidentiel.
C	Limite maximale acceptable pour des terrains à vocation commerciale, non situés dans un secteur résidentiel, et pour des terrains à usage industriel.

Tableau 1-2: Concentrations maximales des éléments traces dans les sols pour chacun des critères génériques dans le Secteur géologique des Basses-Terres du Saint-Laurent (adapté de MDDELCC, 2015)

Élément trace	Critères de sol (mg/kg de matière sèche)		
	A	B	C
Cadmium	1,5	5	20
Cuivre	40	100	500
Plomb	50	500	1000
Zinc	110	500	1500

1.2 Le système sol - plante - éléments traces

1.2.1 Les éléments traces dans les plantes

Certains ET jouent un rôle biologique important pour les plantes : il s'agit du bore, du chlore, du cobalt, du cuivre, du fer, du nickel, du manganèse, du magnésium, du molybdène et du zinc. D'autres, tels que le cadmium, le plomb et le mercure, sont, à l'inverse, toxiques. Par

contre, à des concentrations élevées, tous ces éléments deviennent nocifs pour la biosphère (Gaur & Adholeya, 2004). Le Tableau 1-3 présente les concentrations foliaires de certains éléments que l'on estime insuffisantes, normales ou excessives pour les plantes.

Tableau 1-3: Concentrations approximatives d'éléments traces dans les tissus foliaires matures généralisés pour une variété d'espèces végétales communes¹ (Kabata-Pendias, 2001, Stevenson, 1999)

Concentrations foliaires (en mg/kg de matière sèche)			
Élément	Insuffisantes²	Normales	Excessives
Ag	-	0,5	5 - 10
As	-	1 - 1,7	5 - 10
B	5 - 30	10 - 200	50 - 200
Cd	-	0,05 - 0,2	5 - 30
Co	-	0,02 - 1	15 - 50
Cu	2 - 5	5 - 30	20 - 100
Fe	50	100 - 500	500
Hg	-	-	1 - 3
Mn	10 - 30	30 - 300	400 - 1000
Mo	0,03 - 0,15	0,1 - 0,2	100
Ni	-	0,5 - 1	10 - 100
Pb	-	5 - 10	30 - 300
Se	-	0,01 - 2	5 - 30
Zn	10 - 20	27 - 150	100 - 400

1 - Les valeurs ne sont pas indiquées pour les espèces particulièrement sensibles ou tolérantes.

2 - Insuffisantes si les concentrations sont inférieures aux niveaux indiqués.

Pour la plupart des plantes, des concentrations trop élevées d'ET au sein de leurs tissus causent, directement ou indirectement, des effets toxiques. Dans le premier cas, cela peut représenter, entre autres, des dommages aux structures des cellules et des xylèmes (vaisseaux qui transportent la sève brute des racines aux feuilles), des nécroses des feuilles, et des dommages et des mutations morphologiques des racines. Dans le deuxième cas, c'est en occupant la place des autres nutriments essentiels que se manifeste cette toxicité. De plus, l'excès d'éléments non essentiels peut stimuler la formation de radicaux libres et de composés d'oxygène réactifs, causant ainsi un stress oxydant (Gaur & Adholeya, 2004, Hall, 2002, Marques et al., 2009).

1.2.2 Mécanismes d'absorption des éléments traces par les plantes

De la quantité totale d'ET dans les sols, seulement une certaine proportion s'avère disponible pour les plantes via l'absorption par les racines. Avant de tenir compte des aspects chimiques de la disponibilité des éléments pour les plantes, qui seront traités subséquemment, il est important de considérer que celle-ci requiert d'abord un contact physique entre les racines et ces éléments. La présence de ces derniers dans les sols se caractérise par une importante hétérogénéité spatiale et temporelle, et ce, à plusieurs échelles. Pour l'absorption par les plantes, c'est la disparité à l'échelle des racines qui importe surtout. Trois réponses possibles ont été identifiées quant à la croissance des racines face aux *hotspots* (emplacements, de grandeurs variables, avec des concentrations élevées) d'ET, soit : l'évitement, l'indifférence ou la prolifération (Robinson et al., 2009).

Afin de nourrir la plante, les racines puisent constamment de la solution de sol dans la rhizosphère. La rhizosphère est définie comme étant le volume de sol de quelques millimètres entourant les racines qui est soumis à l'influence directe de l'activité de celles-ci. Les processus biogéochimiques qui y ont cours sont donc différents de ceux de la matrice du sol ou d'un sol non végétalisé (Hinsinger & Courchesne, 2008). La solution de sol consommée par les racines est ensuite transportée dans toutes les sections de la plante, et une partie de cette eau est ensuite évapotranspirée. Les ET, majoritairement liés aux particules du sol, doivent d'abord être mobilisés dans cette solution afin de pouvoir être introduits dans les

racines (Adriano, 1999). Ces éléments s'accumuleront ensuite dans la plante, soit dans les parties souterraines ou aériennes. Ainsi, les contaminants empruntent le même chemin d'entrée que les nutriments, les racines étant peu sélectives comparativement aux feuilles (Robinson et al., 2009).

L'absorption des composés du sol par les racines des plantes varie selon leur nature organique ou inorganique. Puisque les contaminants organiques sont généralement xénobiotiques (c'est-à-dire étrangers et superflus) aux plantes, leurs membranes ne possèdent pas de protéines de transport afin de les pomper. Par conséquent, ces composés sont absorbés par diffusion simple et dépendent de leur hydrophobicité. Le transport des composés organiques dans les plantes est ainsi un procédé davantage physique que biologique. À l'inverse, les ET ont la possibilité d'avoir recours aux procédés biologiques des plantes pour s'y introduire et s'y déplacer, étant donné que plusieurs composés inorganiques sont des nutriments dont les plantes ont besoin pour leur croissance et leurs activités métaboliques (Mitter et al., 2013).

L'absorption s'amorce par la diffusion des substances de la rhizosphère à l'intérieur de la racine, et celles-ci peuvent alors pénétrer par la voie extracellulaire dans l'apoplaste, un des passages des solutés dans les tissus végétaux (constitué d'une suite de microcapillarités), ou alors par la voie intracellulaire dans le symplaste, qui est formé par les plasmodesmes (sortes de tunnels perforant et reliant les membranes plasmiques des cellules entre elles) (Adriano, 1999). La concentration des éléments dans le sol affecte directement ce taux de diffusion. Pour sa part, la température agit indirectement en influençant les actions subséquentes à l'absorption, ce qui fait fluctuer l'espace disponible pour admettre de nouveaux ET. L'intensité du processus dépend aussi de la masse moléculaire et de la polarité de ces éléments, ainsi que de diverses propriétés du sol (pH, humidité, etc.) (Khatisashvili, 2006).

Une fois pénétrés dans les racines, les éléments dissous qui seront transportés vers les parties aériennes de la plante doivent d'abord entrer dans le xylème, c'est-à-dire le réseau de vaisseaux unidirectionnels qui assurent la circulation de la sève brute gorgée de minéraux provenant des racines. Cela peut se produire, de nouveau, soit par la voie apoplastique, soit symplastique. Ces éléments pourront ensuite être redistribués dans la pousse ou les feuilles via

le phloème, l'autre tissu conducteur, quant à lui bidirectionnel et destiné au transport de la sève élaborée. C'est le flux de l'eau évacuée par évapotranspiration qui permet la circulation de la sève brute. En effet, ce processus de diffusion agit comme une pompe, et est mû par l'énergie cinétique des molécules d'eau et le gradient du potentiel de l'eau dans le système air/plante. Le passage des ET dans le xylème requiert par contre de franchir l'endoderme, une couche interne de cellules dont le rôle est justement de constituer une barrière sélective aux substances extraites par les racines. Ces cellules sont imprégnées d'une substance cireuse formant une membrane imperméable, nommée bande casparienne, ce qui crée une résistance au passage des composés toxiques. Cette traversée requiert généralement de l'énergie et des transporteurs protéiques intégrés à la membrane plasmique (Adriano, 1999, Khatisashvili, 2006, Robinson et al., 2009).

Plusieurs transporteurs peuvent convenir pour faire traverser chacun des nutriments, et ils sont classés selon deux types principaux : les passifs, qui agissent avec les ions d'une certaine taille et d'une certaine charge et qui permettent leur passage dans le sens de leur gradient de concentration ; et les actifs, qui font traverser les éléments à travers la membrane contre leur gradient de concentration. Or, il a été démontré que la plupart de ces transporteurs membranaires manquent de spécificité, et qu'ainsi les éléments non essentiels qui ont une taille similaire aux nutriments peuvent les traverser. Les contaminants sont donc en compétition pour les mêmes transporteurs que ceux utilisés par les nutriments essentiels aux plantes. Par exemple, l'arsenic, sous forme d'arsenate (AsO_4^{3-}) peut être pris en charge par les plantes selon le même mécanisme que le phosphore (sous forme de phosphate PO_4^{3-}), le cadmium Cd^{2+} par celui du Ca^{2+} , Zn^{2+} ou Fe^{2+} , le nickel Ni^{2+} par celui du Mg^{2+} , etc. (Adriano, 1999, Robinson et al., 2009).

1.2.3 Relations symbiotiques entre les plantes et les champignons

La nutrition et la croissance végétale s'effectuent, pour environ 85 % des espèces terrestres et aquatiques de ce règne, en symbiose avec des champignons mycorhiziens enchevêtrés à leurs racines. Ceux-ci sont des microorganismes omniprésents dans l'environnement et qui se retrouvent sous diverses formes (arbusculaires, ectomycorhizes,

éricoïdes, etc.). Ceux de types arbusculaires (MA), ou endomycorhizes, sont les plus répandus, ils colonisent de façon non spécifique 70 % des espèces. Cette symbiose existe depuis 450 millions d'années et constitue une association fondamentale et universelle chez les plantes vasculaires et les bryophytes. La symbiose repose sur l'activité photosynthétique de la plante qui permet de fournir de l'énergie au champignon sous forme de glucides et sur l'approvisionnement en eau et en nutriments que celui-ci fournit aux deux organismes (Dalpé, 2005, Fortin et al., 2008, Gaur & Adholeya, 2004).

Les MA sont regroupées sous le phylum des glomérormycètes et présentent une structure filamenteuse formant les hyphes du mycélium. Celui-ci est de type cénocytique, il est donc composé de plusieurs cellules, mais qui ne sont pas cloisonnées au sein de membranes individuelles. Cette structure procure un fonctionnement particulier, car le mouvement des noyaux dans un cytoplasme commun permet une croissance à directions variables. Les MA colonisent donc à la fois le sol et les racines et permettent d'établir un pont entre la rhizosphère et la plante. Les hyphes intraracinaires pénètrent subtilement, sans y perturber les structures, les cellules corticales des racines. Elles s'y propagent d'abord dans les espaces entre les cellules, puis créent des structures arbusculaires à l'intérieur même des cellules, formant ainsi une interface de contact important entre les deux organismes, où les échanges nutritifs se produisent. Ces champignons développent aussi une phase d'hyphes extraradicales, qui s'étendent dans le sol adjacent sous forme d'un réseau tridimensionnel. Ce mycélium microscopique procure une surface de contact inouïe ; on estime que sous un mètre carré de sol de prairie, la surface du réseau d'hyphes est d'environ 90 m², chaque interstice du substrat est donc exploré (Dalpé, 2005, Fortin et al., 2008).

Les champignons formant des MA sont des symbiotes obligatoires, ils ne peuvent se développer et se reproduire sans plante hôte. Inversement, de nombreuses espèces de plantes possèdent aussi une dépendance mycorhizienne, elles ne pourraient croître de façon viable sans cette symbiose. L'évolution des plantes a permis le développement de leur morphologie afin qu'elles s'adaptent à leur milieu, et les MA y ont toujours été intimement liées. On peut donc lier la morphologie du système racinaire d'une plante avec le réseau mycélien associé (Fortin et al., 2008).

Les plantes profitent de cet hébergement de plusieurs façons. Tel que mentionné précédemment, les champignons permettent d'augmenter l'absorption d'éléments essentiels en raison de l'espace plus étendu que les hyphes des champignons explorent dans le sol, hyphes qui absorbent ces nutriments et les transfèrent vers les racines. Les plus petites hyphes permettent également d'accéder à des microsites inaccessibles par les racines des plantes, plus grossières. L'augmentation de l'absorption de nutriments P, K, Ca, S, Cu, Zn, Mg, Co, Ni et N sont des effets bénéfiques des MA bien documentés. En comparaison avec un réseau racinaire beaucoup plus développé, le réseau mycélien maximise la surface de contact en utilisant un minimum d'énergie provenant de la plante, et cette dernière peut allouer davantage de ressources à sa croissance aérienne. En plus de cet apport structurel, les hyphes sécrètent aussi des exsudats acidifiants et s'associent à des bactéries pour dissoudre certains minéraux afin d'accéder à des nutriments (en particulier le phosphore), autrement prisonniers des particules du sol. Un apport nutritif enrichi se manifeste par une meilleure croissance des plantes, mais aussi par une amplification de la vigueur qui permet de mieux résister aux stress de leur environnement. L'augmentation de la surface de contact dans le sol procure également aux plantes mycorhizées une meilleure résistance à la sécheresse, en accédant aux particules d'eau dans les petits interstices. Les champignons peuvent aussi déclencher un signal pour que les plantes ferment plus rapidement leurs stomates en prévision d'une sécheresse, leur évitant ainsi une flétrissure irrévocable (Finlay, 2004, Fortin et al., 2008, Marques et al., 2009).

Cette association permet également de réduire la susceptibilité des plantes aux infections microbiennes et fongiques. Pour ce qui est de ces dernières, les champignons mycorhiziens bloquent physiquement l'accès aux parasites, car au niveau de la rhizosphère et de la mycorrhizosphère (extension de la rhizosphère où s'exerce l'influence de la phase extraradicale des champignons), où la compétition et l'antagonisme prévalent, les propagules des champignons pathogènes échouent à proliférer. Pour ce qui est des maladies bactériennes, les champignons MA prédisposent les plantes à réagir aux attaques plus rapidement, en catalysant divers mécanismes de défense: réactions anatomiques et métaboliques, et sécrétion de substances antibiotiques. De plus, la présence de MA bénéficie quantitativement à la population microbienne favorable, ce qui contribue à la fertilité des sols et enrichit les processus de décomposition et de minéralisation de la matière organique. Le réseau mycélien

dynamique et constamment en croissance procure aussi aux sols une quantité importante de matière organique, la durée de vie moyenne des hyphes étant d'une semaine, ce qui contribue à l'agrégation et à la fertilité des sols. Les hyphes sécrètent même une substance, la glomaline, une sorte de protéine qui agit comme liant pour les particules du sol, et qui contribue au pool de matière organique. Les autres avantages incluent l'amélioration de la structure du sol, la protection contre les insectes herbivores et une régulation des hormones produites. En échange, les champignons reçoivent de la part des plantes des sucres dont ils se nourrissent et des structures où s'établir et se développer. Dans les écosystèmes, ces organismes sont considérés comme des composantes déterminantes, car ils jouent un rôle sur la diversité, la production et l'organisation de la communauté végétale (Dalpé, 2005, Finlay, 2004, Khan, 2005, Mackova et al., 2006, Marques et al., 2009, Willey, 2007).

1.2.4 Mécanismes de tolérance des plantes face aux éléments traces

Considérant que les ET sont normalement toxiques à partir d'une certaine concentration dans les sols, les plantes possèdent généralement des mécanismes de tolérance minimums, souvent adaptés aux éléments présents dans les sols où elles poussent (Robinson et al., 2009). Les plantes que l'on utilise pour accumuler les contaminants doivent donc posséder des mécanismes autres que le simple évitement de ces éléments toxiques, comme dans le cas des plantes dites tolérantes (c'est-à-dire qui peuvent croître dans des environnements contaminés, mais qui n'accumuleront pas les ET nuisibles) (Tsao & Banks, 2003). Pour résister aux contaminants, l'alternative consiste à les détoxifier ou à leur résister une fois pénétrés dans les cellules de la plante. Cela peut se traduire par l'évitement, mais à l'intérieur même de la plante, par certains tissus sensibles comme la zone de croissance à l'extrémité racinaire, le méristème. De façon générale, les mécanismes qui seront déployés dépendent, en plus de l'espèce et de la variété végétale, de l'élément toxique comme tel. Plusieurs des processus étudiés sont donc classés selon l'ET contre lequel ils agissent (Adriano, 1999).

Il est tout de même possible d'identifier les principaux mécanismes, regroupés en neuf groupes ; 1) adsorption des ET aux parois cellulaires ; 2) tolérance des membranes aux ET ; 3) restriction du transport des ET via la membrane plasmique des cellules ; 4) évacuation active

(avec une pompe à efflux) des ET dans la cellule vers l'apoplaste ; 5) production d'enzymes résistantes aux ET ; 6) entreposage et accumulation des ET dans la vacuole des cellules, afin de les exclure des sites où les processus essentiels comme la division cellulaire et la respiration ont lieu ; 7) chélation ou complexation des ET dans le cytosol (phase liquide des cellules) par des ligands de protéines et d'acides aminés ou des acides organiques (pour prévenir les effets toxiques associés aux ions libres) ; 8) précipitation des composés métalliques qui ont une faible solubilité ; 9) production de protéines qui réparent les dommages subis sur les cellules (Adriano, 1999, Robinson et al., 2009, Singh et al., 2003, Zhivotovsky et al., 2011). De façon générale, ces mécanismes sont régis par l'expression des gènes qui s'activent en réponse à un stimulus. Puisque des milliers de gènes par plante et par élément sont impliqués dans ce processus, les réponses sont très variables (Memon & Schroder, 2009).

1.2.5 Espèces hyperaccumulatrices

Certaines plantes dites hyperaccumulatrices ont la capacité d'accumuler et de tolérer des niveaux très élevés d'ET, même ceux qui ne leur sont pas essentiels, à des concentrations comparables à celles des macronutriments des plantes. Ces espèces sont susceptibles d'accumuler des quantités d'ET cent fois plus grandes que la majorité des plantes (Pulford & Watson, 2003, Robinson et al., 2009). Pour qu'une espèce soit considérée hyperaccumulatrice, il a initialement été établi qu'elle doit contenir, dans sa masse sèche, plus de 0,01 % de Cd (100 mg/kg) ; ou 0,1 % (1000 mg/kg) d'As, Co, Cu, Cr, Ni, Pb ou Se ; ou 1 % (10 000 mg/kg) de Mn ou Zn (McGrath & Zhao, 2003, Marques et al., 2009, Memon & Schroder, 2009). Ces seuils ont été établis sans considération pour les concentrations pédologiques.

La définition actuelle est plus vaste, et en plus des taux de concentrations à atteindre dans les parties aériennes, une espèce hyperaccumulatrice doit aussi répondre aux exigences suivantes : 1) le ratio des « concentrations parties aériennes / racines » doit être supérieur à 1, ce qui indique une capacité de transport efficace des ET des racines aux parties aériennes et 2) le ratio des « concentrations - parties aériennes / concentrations – sol » doit également être supérieur à 1, ce qui met l'accent sur l'important degré d'absorption de ceux-ci par l'espèce

végétale (Marques et al., 2009). Cette faculté dont sont dotées certaines plantes est due à de meilleures capacités à mobiliser les éléments moins solubles du sol, à l'aide par exemple, d'exsudats racinaires dans la rhizosphère qui rendent les contaminants plus biodisponibles. Un des avantages écologiques qui a été identifié pour expliquer l'accumulation d'ET dans les parties aériennes est la défense que cela procure contre les insectes et les prédateurs herbivores (Bissonnette et al., 2010).

Ce phénomène d'hyperaccumulation est plutôt rare, environ 450 espèces de ce type sont connues à ce jour, ce qui représente moins de 0,2 % de la division des angiospermes. Plusieurs de celles-ci se retrouvent dans la famille des *Brassicaceae*, en plus particulièrement chez les genres *Alyssum* et *Thlaspi*. En raison de la quasi-omniprésence des roches ultramafiques riches en Ni dans les sols, et de la recherche géobotanique historiquement foisonnante sur la flore ultramafique, environ les deux tiers des espèces hyperaccumulatrices connues le sont pour le Ni. Les espèces pouvant hyperaccumuler le Cd, le Co, le Cu, le Pb ou le Zn sont beaucoup moins nombreuses parmi celles qui ont été découvertes (Bissonnette et al., 2010, McGrath et al., 2001).

1.2.6 Facteurs influençant l'absorption des éléments traces par les plantes

1.2.6.1 Biodisponibilité des éléments traces

Originellement, la biodisponibilité d'un élément référerait à la portion de son contenu total dans le sol qui peut interagir avec un récepteur biologique, c'est-à-dire qui est disponible pour les organismes vivants. Le concept a évolué continuellement avec le progrès des connaissances, et varie légèrement d'une discipline à une autre (Masse, 2011). En science des sols, la définition la plus commune serait ; pour être biodisponible, un élément doit être présent, ou alors facilement transformable, en une forme potentiellement assimilable par un organisme à une échelle de temps significative pour la croissance et le développement de celui-ci (Hinsinger & Courchesne, 2008, Nolan et al., 2003, Masse, 2011). Le concept revêt une nature dynamique et toute extrapolation de cette mesure s'avère ainsi approximative. Les contenus totaux en éléments mesurés dans les sols servaient autrefois à estimer la

biodisponibilité, mais l'on considéra ensuite que les éléments se retrouvent sous différentes formes sur les particules ou dans la solution de sol, et que ces formes présentent des potentiels distincts face à l'absorption par les plantes (Hinsinger & Courchesne, 2008). L'absorption d'ET et, conséquemment, la quantité totale d'éléments extraits du sol dépendent de cette disponibilité dans le sol. Dans le cas des ET, ceux qui sont considérés comme disponibles pour l'absorption par les plantes sont ceux qui se trouvent sous forme soluble dans la solution de sol, ou qui peuvent facilement être désorbés ou solubilisés. On considère qu'il s'agit de la phase labile des éléments (Kidd et al., 2009, Wenzel, 2009).

Il est aussi important de considérer le taux de transfert des éléments vers la phase liquide de la rhizosphère, ou du moins vers la fraction labile. En effet, pour que le taux d'absorption des ET par les plantes soit suffisant, voire constant, l'activité de ceux-ci dans la solution de sol de la rhizosphère doit être soutenue par un réapprovisionnement conséquent provenant de la phase solide. Le taux de transfert correspond au temps de réponse du sol face à l'épuisement de l'élément dans la solution de sol, et est fonction des caractéristiques du sol, tout comme de la nature de l'élément comme tel. Les attributs des sols leur confèrent une capacité tampon, qui contrôle, selon la concentration des éléments dans la solution de sol, le stock d'éléments labiles (Kidd et al., 2009, Marques et al., 2009, Wenzel, 2009). Pour étudier ce mécanisme, on utilise l'indice de capacité tampon ; K_d , qui correspond au rapport de la concentration de l'ET adsorbé au sol (en mol/g) sur la concentration solubilisée dans la solution (en mol/ml). Une valeur élevée de K_d indique que les éléments ont peu tendance à être solubilisés (Weber et al., 2004, Wenzel, 2009). La Figure 1-1 illustre les différentes combinaisons de K_d , de concentrations dans la solution de sol, de la quantité de la fraction labile et de la vitesse de réponse du sol, et de leurs conséquences attendues sur l'épuisement de la fraction biodisponible (la fraction labile) et l'absorption par la plante.

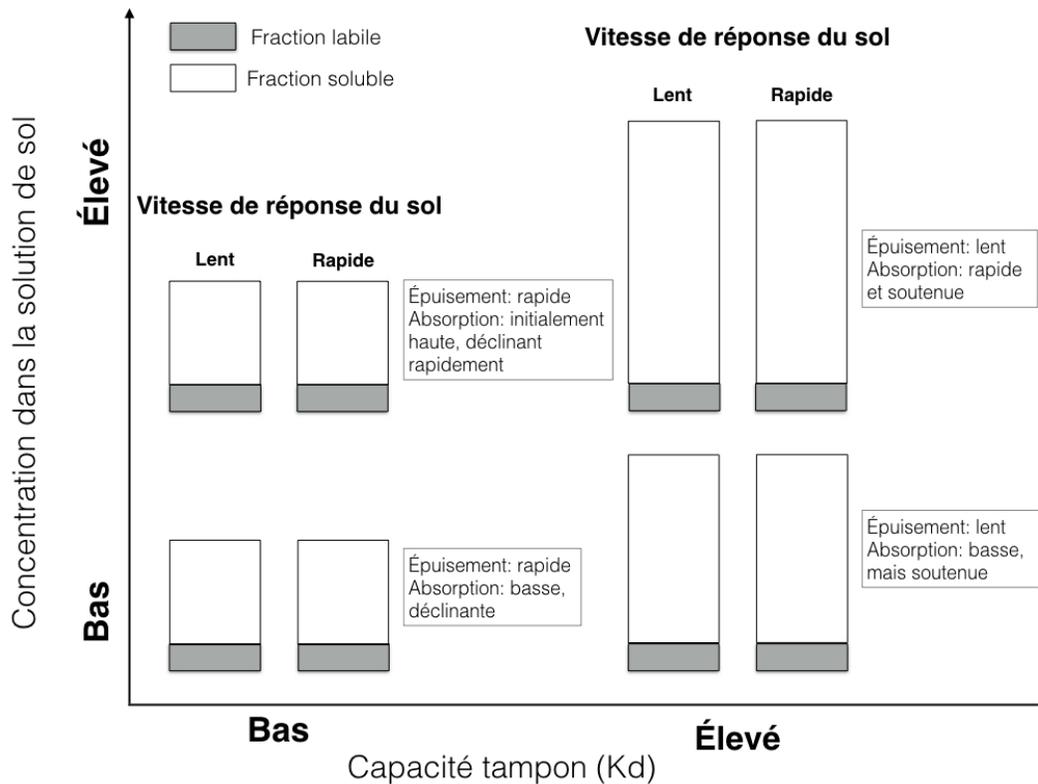


Figure 1-1: Représentation schématique des combinaisons possibles entre le pouvoir tampon du sol (Kd), la concentration dans la solution de sol, la taille de la phase labile et le temps de réponse (Adapté de Wenzel, 2009)

Les plantes peuvent elles-mêmes accroître la biodisponibilité des ET. Leurs exsudats racinaires ont comme important rôle, entre autres, l'altération des minéraux du sol, ainsi que la mobilisation et l'augmentation de l'absorption des nutriments du sol par les racines. Ceci peut se faire en agissant directement sur l'acidification, la chélation, la précipitation et les conditions oxydoréductrices au sein de la rhizosphère. Par exemple, les plantes peuvent libérer des ions H⁺, qui vont remplacer les cations sur les sites de capacité d'échange cationique (CEC), rendant ainsi les cations métalliques plus disponibles (Kidd et al., 2009, Marques et al., 2009, Robinson et al., 2009).

1.2.6.2 Spéciation des éléments traces

La biodisponibilité des ET dépend grandement de la forme chimique sous laquelle ils se trouvent, c'est-à-dire de leur spéciation. L'estimation des différents liens formés entre ces ET et les autres constituants du sol procure en effet une meilleure évaluation de la mobilité et de la disponibilité que leur contenu total dans le sol (Garcia et al., 2005, Marques et al., 2009). On considère que la fraction de l'élément chimique qui joue un rôle majeur est celle de l'ion libre, et que l'activité thermodynamique de cet élément non complexé contrôle beaucoup sa biodisponibilité (Singh et al., 2003).

La spéciation et la mise en solution des ET est contrôlée par plusieurs facteurs du sol, ainsi que par leurs propriétés intrinsèques. Parmi les facteurs physico-chimiques, la capacité de rétention d'eau, le degré de complexation avec les ligands, le type et la densité de charges sur les particules colloïdales, le pH et le carbone organique dissous exercent un rôle important (Jensen et al., 2009, Marques et al., 2009).

Ainsi, les ions libres sont, de pair avec les cations qui se trouvent déjà dans la phase liquide, les éléments les plus disponibles. Suivent ensuite les cations échangeables des complexes organiques et inorganiques qui s'avèrent moyennement biodisponibles, puis les cations chélatés (qui diffèrent des complexes par la présence de deux liaisons chimiques, plutôt qu'un seul, fixant le cation au ligand) qui le sont que faiblement. Les composés précipités sur les particules de sol ne pourront l'être qu'après dissolution, alors que les ET liés ou fixés à l'intérieur de la matière organique qu'après une décomposition de celle-ci, et ceux liés ou fixés à l'intérieur des particules minérales qu'après une altération de ces minéraux (Kabata-Pendias, 2001, Wiegand et al., 2009).

1.2.6.3 Caractéristiques du sol

Entendu que les plantes ne peuvent assimiler que les éléments dissous dans la solution de sol, les ET présents dans le sol doivent être solubilisés afin d'être accessibles par les racines, et ce, qu'ils soient sous forme d'ions libres, ou complexés. La concentration de ces ET dans la solution s'avère donc très importante. Les propriétés du sol jouent surtout un rôle sur

la mobilisation et la solubilité, et donc sur la biodisponibilité des métaux. Le pH du sol est habituellement parmi les facteurs les plus importants qui peuvent induire la solubilisation des ET liés aux particules du sol. Les métaux (Ag, Au, Cd, Cu, Cr, Fe, Hg, Ni, Pb, Ti, U, Zn) ont tendance à se solubiliser et à devenir plus mobiles dans des conditions acides, alors que les métalloïdes (As, B, Ge, Sb, Si, Te) suivent généralement la tendance inverse. En effet, la stabilité des complexes humo-métalliques suit une relation proportionnelle avec le pH, ce qui induit une adsorption plus importante des métaux aux particules du sol dans des conditions plus basiques (Banuelos & Ajwa, 1999, Mleczek et al., 2009, Wiegand et al., 2009).

Étant donné que la matière organique (MO) du sol agit comme puits à CEC pour les cations métalliques, la proportion de cette MO dans le sol est également un facteur déterminant. Les composés organiques étant plus solubles que ceux inorganiques, la solubilité des ET suit une relation positive avec la teneur en MO. Le type de MO compte aussi ; les acides fulviques et humiques seraient les constituants organiques les plus propices à former des interactions entre les matériaux argileux et les ET sous forme d'ions (Banuelos & Ajwa, 1999, Marques et al., 2009). Ainsi, les minéraux argileux contribuent aussi de façon considérable à la CEC, en fournissant au sol des sites d'échanges sur lesquels des processus d'adsorption des ET se produisent. Ces métaux sont ensuite plus facilement mobilisables, la teneur en argile est donc positivement corrélée avec la biodisponibilité (Wiegand et al., 2009).

Une autre des caractéristiques critiques du sol est le potentiel d'oxydoréduction. Ce dernier est contrôlé par la structure, la porosité et la texture du sol. Dans les cas d'une forte saturation en eau, un déficit en oxygène s'installe et ces milieux réducteurs, peu propices à l'activité microbienne, ne favorisent pas la disponibilité des ET. Dans les sols bien aérés, oxydés et plus acides, plusieurs d'entre eux s'avèrent plus mobiles, et donc disponibles pour les plantes (Adriano, 1999, Kabata-Pendias, 2004).

Les microorganismes du sol, intervenant notamment dans le cycle des nutriments, la dégradation de la MO, la structure du sol et le pH jouent, d'une part, un rôle indirect notable sur la biodisponibilité des ET. D'autre part, ils peuvent, par le biais de divers mécanismes, absorber et accumuler des ET à l'intérieur même de leurs tissus, ou les immobiliser dans des substances polymériques extracellulaires. Aussi, ils synthétisent des agents chélateurs qui

solubilisent les ET. Cela se produit également, en conditions anaérobiques, en simplifiant les formes oxydées des composés par une réaction de réduction. À l'inverse, les bactéries du sol peuvent également oxyder les ions métalliques, ce qui a pour effet de produire des composés plus complexes, et donc moins biodisponibles (Banuelos & Ajwa, 1999, Stevenson, 1999).

La cinétique des processus qui ont cours dans le sol est aussi dépendante de la température du sol ; une augmentation induit une hausse de l'activité biologique, des réactions chimiques, et ainsi de la mise en solution des ET. Évidemment, tout cela est aussi tributaire des espèces chimiques et végétales impliquées. De plus, comme expliqué précédemment, les mycorhizes jouent un rôle important dans l'équilibre entre la rhizosphère et les racines (Adriano, 1999, Kabata-Pendias, 2001, Singh et al., 2003).

1.3 Principe de phytoextraction

1.3.1 La phytoextraction au sein des méthodes de phytoremédiation

Le terme phytoremédiation englobe les méthodes qui utilisent la végétation pour contenir, séquestrer, enlever ou dégrader les contaminants organiques ou inorganiques des sols, sédiments, eaux de surface ou eaux souterraines (Tsao & Banks, 2003). On distingue généralement les procédés suivants :

La **phytoextraction, ou phytoaccumulation**, est un processus d'absorption des contaminants du sol par les racines des plantes et leur accumulation dans la biomasse végétale (racines et parties aériennes), qui est ensuite récoltée.

La **phytostabilisation** est un processus de confinement où l'activité chimique des plantes réduit la mobilité et la biodisponibilité des contaminants, via la réduction, l'oxydation ou la précipitation de ceux-ci. La phytostabilisation peut aussi faire référence à l'utilisation des plantes pour réduire le risque de l'érosion éolienne ou de lessivage.

La **phytovolatilisation** est un processus de transfert où les plantes puisent les contaminants du sol et les transforment en des composés volatils qui sont relâchés dans l'atmosphère par

leurs stomates, ou à l'inverse les plantes captent les polluants de l'air et les séquestrent dans leur biomasse.

La **phytodégradation** réfère à la dégradation qui se produit dans la rhizosphère, à la faveur de la relation symbiotique entre la plante et des microorganismes qui y sont associés (Batty & Dolan, 2011, Marques et al., 2009, Wenzel, 2009).

1.3.2 La phytoextraction des éléments traces

La phytoextraction concerne donc le prélèvement des contaminants du sol au moyen de l'absorption par des plantes. Ce processus de concentration aboutit sur une diminution considérable de la masse contaminée ; des tonnes de sols à des kilogrammes de biomasse végétale. On procède de plus à un transfert des contaminants d'une matrice à base d'aluminosilicate (le sol), à une matrice à base de carbone (les plantes). Le carbone des plantes peut ensuite être oxydé en dioxyde de carbone, ce qui réduit et concentre encore davantage la masse de matière contaminée. La biomasse végétale générée doit ensuite être récoltée et disposée de façon à ne pas réintroduire les contaminants dans l'environnement (Kidd et al., 2009, Marques et al., 2009, Robinson et al., 2009, Singh et al., 2003, Tsao & Banks, 2003, Willey, 2007).

Cette méthode de décontamination peu coûteuse et réalisée *in situ*, s'effectue à l'aide de plantes vasculaires, et plus particulièrement avec les espèces ligneuses (arbres et arbustes), dont le système racinaire généralement plus étendu que celui des herbacés est préférable pour atteindre des couches de sol plus profondes (Vamerali et al. 2009). Il est admis que les plantes peuvent accumuler les éléments qui leur sont essentiels ; bore (B), cuivre (Cu), fer (Fe), manganèse (Mn), molybdène (Mo), et zinc (Zn), mais en plus grande quantité que ce qui est nécessaire. La phytoremédiation mise sur la particularité qu'ont certaines plantes de pouvoir également absorber les éléments qui ne possèdent aucune fonction biologique connue. Ces éléments, tels qu'Ag, Cd, Co, Cr, Hg et Pb, sont même considérés comme toxiques à partir d'une certaine concentration (Memon & Schroder, 2009).

Dans le cadre du projet présenté ici, ce sont les éléments traces qui représentent la cible de décontamination par la méthode de phytoremédiation, et plus précisément ; le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le plomb (Pb) et le zinc (Zn). Ces ET sont considérés des contaminants si leur présence est indésirable, ou à partir d'une certaine concentration ou forme qui a un effet toxique sur l'environnement ou la santé humaine. Ils figurent parmi les ET les plus communs sur le territoire nord-américain, et se trouvent sous des concentrations très variables, allant de 1 à 10 000 mg/kg. Ils peuvent exister sous différentes formes et se grouper à différentes fractions du sol ; ions libres, composés solubles, complexes liés à la matière organique ou inorganique, métaux liés aux minéraux silicatés, etc. (Tsao & Banks, 2003).

1.3.2.1 Gestion de la biomasse produite

La biomasse produite par un procédé de phytoremédiation, riche en contaminants et potentiellement dangereuse, nécessite une gestion efficace et donc un entreposage ou une façon d'en disposer qui ne posent pas de risque environnemental (Dickinson et al., 2009, Kidd et al., 2009). On distingue les étapes de prétraitement, qui visent à réduire le volume de la biomasse ; compaction, compostage et pyrolyse (décomposition du matériel par la chaleur en conditions anaérobiques, sans émissions), de celles finales qui permettent de disposer complètement du matériel végétal ; incinération sous conditions contrôlées dans une fonderie, dépôt direct dans des dépotoirs de déchets dangereux, incinération sèche (*ashing*) et extraction liquide (lessivage des ET des plants récoltés par un agent chélateur). Bref, cette problématique doit impérativement être réfléchiée avant tout traitement de phytoextraction (Sas-Nowosielska et al., 2004).

1.3.2.2 Sites et cas ciblés pour la phytoextraction

Les conclusions des études récentes s'accordent pour attribuer à la phytoextraction une utilisation qui vise les sites peu ou modérément pollués, c'est-à-dire avec des concentrations en ET qui ne dépassent pas de beaucoup les seuils maximums établis pour chacun. De plus, tel que mentionné précédemment, cette technologie trouve son intérêt avec les sites contaminés

de superficie importante dont l'approche par les méthodes traditionnelles comme le *dig and dump* est plutôt limitée. Ainsi, les terrains agricoles ayant été longtemps arrosés aux pesticides et engrais sont de bons candidats, de même que les anciens sites miniers, les friches industrielles et les sols urbains ayant été touchés notamment par des fuites des dépotoirs ou des dépôts aériens provenant des rejets industriels et de transport (Dickinson et al., 2009, Kidd et al., 2009).

1.3.3 L'apport des champignons mycorhiziens à la phytoremédiation

Étant donné que l'absorption des ET dépend autant des plantes que des caractéristiques du sol, dont l'activité des microorganismes présents, il est important, pour la phytoremédiation, de bien comprendre les interactions entre les racines et leurs symbiotes telles que les MA. La contamination et l'état de dégradation des sols affectent, certes, la diversité et l'abondance des champignons mycorhiziens du sol. Ceux-ci peuvent en effet pâtir de la toxicité des contaminants inorganiques, mais l'on a observé que la majorité des plantes mycotrophes poussant sur des terrains contaminés étaient tout de même colonisées par des champignons. Ceci indique qu'ils ont développé une tolérance et qu'ils peuvent ainsi jouer un rôle dans un processus de phytoremédiation. Par exemple, des auteurs ont rapporté la présence de spores des taxons de fungis MA tels que *Glomus* et *Gigaspora* associés à la plupart des plantes poussant dans des habitats contaminés aux ET. Les associations avec les champignons peuvent donc avoir un effet déterminant sur la protection des plantes par rapport à la toxicité des ET. L'efficacité de cette défense dépend toutefois des espèces de MA et des contaminants (Khan et al., 2000, Deneux-Mustin et al., 2003).

Pour contrer l'une des faiblesses les plus limitantes de la phytoextraction, soit la durée nécessaire du procédé (ce sujet est présenté subséquentment), il a aussi été suggéré d'utiliser cette symbiose avec des mycorhizes pour accroître l'extraction des contaminants par les plantes. Plusieurs études ont tenté de démontrer cet apport. Dans certains cas, l'inoculation de MA a effectivement augmenté l'accumulation d'ET ; pour du Cd, du Cu, du Pb et du Zn avec un amalgame d'espèces fongiques (dont une du genre *Glomus*) associées à une espèce de maïs (Wang et al., 2007) ; pour du Cd accumulé par des plantes tournesols et une espèce de *Glomus*

(Lopez de Andrade et al., 2008) ; pour des plants de maïs et de trèfle inoculés avec *Glomus mosseae*, qui ont accumulé du Cd, du Cu, du Pb et du Zn (Joner & Leyval, 2001) ; pour du Cd et du Cu accumulés par du maïs, associé à 3 espèces de MA, dont 2 *Glomus* (Liao et al., 2003) ; pour l'accumulation du Ni dans des plants de chanvre associé à *Glomus mosseae* (Citterio et al., 2005).

Inversement, d'autres études ont plutôt mesuré des réductions des concentrations des ET dans les tissus aériens des plantes associées à des MA: pour du Cd et du Zn accumulés par une espèce arbustive de saule et des inocula d'une espèce de *Glomus* (Bissonnette et al., 2010) ; avec du maïs, associé à *Glomus mosseae*, qui a accumulé du Cd, du Cu, du Mn, et du Zn (Weissenhorn et al., 1995) ; avec une espèce du genre herbacé *Thlaspi*, associée à une espèce indigène de MA, qui a absorbé du Cd, du Pb, et du Zn (Vogel-Mikuš et al., 2006). Les champignons MA auraient ainsi joué davantage un rôle de tolérance aux contaminants en empêchant leur transfert vers la plante (Fortin et al., 2008).

La contribution des MA peut aussi s'exprimer plus simplement par un accroissement significatif de la biomasse produite, et donc une augmentation de la quantité totale d'ET extraits du sol par rapport à des plants non mycorhizés (Baum et al., 2006, Fillion et al., 2011). De tels résultats ont été obtenus, par exemple, par Lopez de Andrade et al. (2008) avec des plantes tournesols et *Glomus intraradices*, et par Wang et al. (2005) pour une espèce de plante du genre *Elsholtzia* inoculée avec une espèce ou un mix de cinq espèces de *Glomus*. Le contraire, soit une diminution de la croissance des plants inoculés, a aussi été observé, tel que par Citterio et al. (2005), avec une espèce de chanvre et *Glomus mosseae*.

Peu d'études semblent avoir porté sur les effets de l'association entre des espèces arbustives de saules et des MA. Bissonnette et al. (2010) est l'une des rares publications qui l'en traitent à ce jour dans la littérature. Par contre, les saules peuvent également former des associations avec des champignons ectomycorhiziens. Ces types de champignons, beaucoup moins fréquents dans la nature (environ 5 % des espèces végétales), se développent plutôt à l'extérieur des cellules de la plante hôte. Ils y forment alors un réseau autour des racines, un mycélium extraradical, qui remplit le même rôle que chez les champignons MA (Fortin et al., 2008). Cette symbiose a été un peu étudiée pour les besoins de la phytoremédiation. Mrnka et

al. (2012) ont mesuré que le champignon ectomycorhizien *H. mesophaeum* avait un apport positif sur la biomasse du saule *Salix alba*, alors que ce n'était pas le cas pour les MA du genre *Glomus*. Par contre, les plants de saules en association avec les champignons ectomycorhiziens ont accumulé dans leur biomasse aérienne des concentrations inférieures de Cd par rapport aux plants contrôles, bien que cet effet n'était pas significatif. Baum et al. (2006) ont pour leur part observé que l'association entre *Paxillus involtus*, un champignon ectomycorhizien, et le saule *Salix dasyclados* permettait d'augmenter non seulement la biomasse produite, mais également les concentrations de Cd et de Zn dans les parties aériennes.

Les résultats rapportés dans les études portant sur l'apport des champignons mycorhiziens peuvent sembler contradictoires. Des méta-analyses ont révélé que cette symbiose joue un rôle sur l'accumulation qui fluctue selon les concentrations d'ET dans les sols. En effet, selon l'étude exhaustive d'Audet et Charest (2007), la présence de mycorhizes ferait augmenter considérablement la capacité d'extraction des plantes lorsque les contaminants se trouvent en faibles concentrations dans les sols. Cela serait dû, comme mentionné précédemment, au plus grand volume de la mycorrhizosphère, par rapport à la simple rhizosphère, qui permet un accès plus vaste aux ressources du sol, dont les éléments non essentiels. Au contraire, sur les sites fortement contaminés, la biodisponibilité des contaminants serait plutôt réduite par les mycorhizes, ce qui diminuerait dans un même ordre de grandeur la capacité des plantes à les extraire. Dans ces cas, les hyphes des champignons séquestretraient les ET en les liant à leurs parois, puis en les diffusant à l'intérieur de leurs cellules. Le mycélium des champignons résistants pourrait en effet filtrer les ET, en accord avec leur fonction protectrice. L'inoculation de mycorhizes ne serait donc avantageuse que pour les sites faiblement contaminés (Audet & Charest, 2007, Leyval et al., 2002).

La performance des MA serait toutefois aussi influencée par certains autres facteurs, tels que les caractéristiques des sols, et les résultats sont spécifiques aux espèces de mycorhizes, de plantes hôtes, et aux types de contaminants (Marques et al., 2009). De plus, Joner et Leyval (2001) ont observé que la densité racinaire jouait aussi un rôle sur l'efficacité des champignons. Ainsi, lorsque les densités étaient faibles, les concentrations d'ET dans les

plants inoculés étaient augmentées par rapport aux plants témoins, alors que les MA n'avaient pas d'effet significatif en cas de densités élevées, lorsque le volume de sol était efficacement exploité par les racines. Les résultats contrastants peuvent aussi être en partie expliqués par des dispositifs expérimentaux différents, par exemple en serre ou sur le terrain (Wenzel, 2009). La provenance des espèces mycorhiziennes serait aussi à considérer dans le choix de celles-ci. Les écotypes MA indigènes des lieux contaminés, de par leur évolution étroitement liée aux conditions du terrain et aux plantes, semblent plus efficaces à protéger les plantes des contaminants, et donc à contrôler leur absorption et leur transfert vers les parties aériennes que les souches de référence provenant de sols non-contaminés (Joner & Leyval, 2001, Khan et al., 2000).

1.3.4 Choix de la plante phytoremédiatrice

Une grande variabilité des comportements des plantes face aux milieux contaminés est observée au sein des espèces, et même au sein des variétés et clones d'une même espèce. Le choix de la plante pour un traitement de phytoremédiation s'avère ainsi crucial.

Bien que la recherche en phytoremédiation a d'abord porté sur les espèces hyperaccumulatrices, le principal problème qui restreint l'utilisation de ces espèces réside dans le fait que leur production de biomasse est souvent trop faible pour que le traitement de phytoremédiation soit fructueux. Leur croissance est, de plus, généralement trop lente pour espérer une décontamination à moyen terme. La majorité des espèces qui correspondent aux critères proviennent des régions tropicales et sont également peu adaptées aux climats tempérés. D'autres aspects contraignants leur sont généralement associés, tels que leur mode de vie annuel, leur réseau racinaire peu étendu limitant la zone d'atteinte et leur taux de transpiration faible restreignant la circulation, et donc l'absorption de l'eau par la plante (Lunáčková et al., 2003, McGrath et al., 2001).

À la lumière de ces considérations, les caractéristiques à considérer pour le choix d'une plante doivent dépasser le simple aspect de l'accumulation. Elles peuvent être exposées ainsi : être tolérant à des niveaux possiblement élevés de contaminant ; posséder un système

racinaire fourni ; disposer d'un taux de croissance rapide ; avoir le potentiel de produire une biomasse importante sur le site en question ; et pouvoir accumuler la majeure partie des contaminants dans la partie exploitable, que représentent généralement les parties aériennes (Marques et al., 2009).

1.3.4.1 Espèces ligneuses à croissance rapide

L'alternative la plus intéressante aux plantes hyperaccumulatrices, qui s'avèrent pour la plupart des espèces herbacées et/ou à croissance lente, se concrétise avec les espèces ligneuses à croissance rapide. Les avantages des arbres et des arbustes incluent effectivement un système racinaire profond ; un taux de transpiration élevé ; une production importante de biomasse ; et l'établissement d'un couvert de végétation continu, résultant en une stabilisation du site, et une réduction du risque d'érosion et de lessivage des contaminants (Dos Santos Utmazian & Wenzel, 2007, Wieshammer et al., 2007). En plus d'être suffisamment productives, les espèces doivent aussi posséder des capacités modérées d'accumulation, c'est-à-dire pouvant absorber significativement davantage d'ET que ne le ferait la majorité des plantes, bien qu'inférieurement que celles considérées comme hyperaccumulatrices (Dickinson et al., 2009, Hammer et al., 2003). Plusieurs espèces au sein des genres *Alnus*, *Betula*, *Populus*, *Salix* et *Larix* ont été étudiées et ont démontré des aptitudes intéressantes (French et al., 2006, Hammer et al., 2003, Pulford & Watson, 2003).

Afin d'évaluer le potentiel d'accumulation des ET par différentes espèces de plantes, des facteurs de comparaison sans unité ont été conçus. Le facteur de concentration biologique (FCB), ou facteur de transfert, se définit comme le ratio des concentrations des ET dans les tissus de la plante par rapport aux concentrations totales d'ET dans le sol. Quand ce facteur atteint une valeur supérieure à 1, cela signifie qu'il y a présence d'un transfert actif des ET du sol vers les tissus aériens de la plante (Bissonnette et al., 2010, Dickinson & Pulford, 2005, Moreno-Jimenez et al., 2009). C'est donc l'équilibre entre la production de biomasse et la profondeur des racines, l'accumulation de ET dans les parties aériennes et la résistance aux éléments toxiques et au climat qu'il faut viser (Jensen et al., 2009).

1.3.4.2 Efficacité du genre *salix*

Parmi les espèces qui répondent aux critères énoncés ci-dessus, plusieurs parmi celles appartenant à la famille des Salicacées (*Salicaceae*), notamment chez les genres des saules (*Salix*) et des peupliers (*Populus*), ont révélé un potentiel intéressant pour la phytoremédiation. Ainsi, les espèces *salix sp.* ne sont pas des plantes hyperaccumulatrices, mais leur taux élevé de production de biomasse, leur croissance rapide et leurs racines profondes compensent. De plus, ils sont généralement bien adaptés aux conditions climatiques nordiques et peuvent résister aux températures froides, de même qu'à des sols appauvris et compacts ; et ils s'établissent rapidement et se propagent facilement (Bissonnette et al., 2010, Li et al., 2010, Mleczek et al., 2009, Mleczek et al., 2010). Les plantations de saules peuvent produire annuellement entre 20 et 30 tonnes/hectare (Hammer et al., 2003). L'accumulation d'ET, dont ceux non essentiels, par certaines espèces de saules serait même une propriété constituante plutôt qu'adaptative (Vysloužilová et al., 2006).

D'importantes dissimilitudes sont évidemment observables par rapport aux potentiels de phytoremédiation des différentes espèces et clones de saules, en raison de leurs diversités génétiques propres. Plusieurs études ont démontré que différentes espèces du genre *Salix* possèdent la capacité d'accumuler des concentrations élevées de Cd (Dickinson & Pulford, 2005, Li et al., 2010) et de Zn (Bissonnette et al., 2010, Vandecasteele et al., 2005) dans leurs biomasses aériennes (Meers et al., 2007). Lors d'autres expériences avec des espèces de *Salix*, des accumulations modérées d'As (Vamerali et al., 2009) et de Mn (Moreno-Jimenez et al., 2009) ont par exemple aussi été observées. Pour ce qui est des autres contaminants communs, tels que le Cu, le Cr, le Ni et le Pb, les plantes Salicacées ne parviennent habituellement pas à les absorber en concentrations suffisantes dans leurs tissus aériens. Toutefois, ces espèces parviennent généralement à tolérer des contaminations élevées sans exhiber de symptômes de toxicité (Bissonnette et al., 2010). Des FCB de Cd pour les parties aériennes entre 0,17 et 27,9 ont été mesurés pour différents types de sol avec diverses espèces de *Salix* (Dickinson & Pulford, 2005). Pour ce qui est de *Salix purpurea*, l'espèce utilisée dans la présente étude, plusieurs clones se sont avérés efficaces pour accumuler divers contaminants (Cu, Cd, Cr, Ni, Pb et Zn) lors d'une étude sur le terrain en Pologne (Mleczek et al., 2009).

1.3.5 Phytoextraction sur des sites de contamination mixte

1.3.5.1 Caractéristiques de la contamination organique

Les contaminants organiques, produits à base de carbone, sont nécessairement des polluants, aucun n'étant nécessaire à la croissance des plantes. Les types de substances sont très variables (par exemple ; TNT, essence, HAP, PAH), et sont libérées dans l'environnement à la suite d'un large éventail d'activités. La plupart des contaminants organiques présentent des structures non polaires et ont une faible solubilité dans l'eau. En outre, l'hydrophobicité des contaminants est positivement corrélée avec la taille de leur structure chimique. Ainsi, plus les substances sont lipophiles, plus ils sont absorbés aux particules solides du sol, et donc moins biodisponibles et dégradables (Batty & Dolan, 2011). Voir le Tableau 1-4 pour les limites établies par le MDDELCC concernant les composés organiques étudiés ici.

Tableau 1-4: Concentrations maximales des composés organiques dans le sol pour les trois critères génériques (adapté de MDDELCC, 2015)

Composés	Critères de sol (mg/kg de matière sèche)		
	A	B	C
Biphényles polychlorés (BPC)			
Somme des congénères	0,05	1	10
Hydrocarbures pétroliers (HCP)			
C ₁₀ à C ₅₀	300	700	3500
Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)			
Anthracène	0,1	10	100
Chrysène	0,1	1	10
Phénanthrène	0,1	5	50
Pyrène	0,1	10	100

1.3.5.2 La phytodégradation des contaminants organiques

Le principe d'utiliser des plantes pour restaurer les sols contaminés aux composés organiques est basé sur le constat que la décomposition de ces polluants est accélérée lorsque les sols sont végétalisés, par rapport aux sols dénudés avoisinants. La recherche sur la

phytoremédiation a d'abord surtout porté sur les solvants chlorés, les explosifs et les hydrocarbures pétroliers, mais elle s'étend maintenant à d'autres produits, tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les biphényles polychlorés (Alkorta & Garbisu, 2001).

On distingue deux types de stratégies pour la phytoremédiation des contaminants organiques ; la phytoremédiation directe, et celle *explanta*. Dans le premier cas, il s'agit de phytoextraction comme dans le cas des polluants inorganiques. L'absorption est donc, ici aussi, limitée par la biodisponibilité du composé et les mécanismes d'absorption des plantes. Sauf pour quelques exceptions, le déplacement des produits organiques à l'intérieur de celles-ci se produit par le biais de la phase liquide du sol. L'absorption et le transfert vers les parties aériennes sont également tributaires de l'espèce de plante, et un des facteurs déterminants parmi les espèces tolérantes serait le taux d'évapotranspiration.

Pour ce qui est de la phytoremédiation *explanta*, divers procédés ont été mis en œuvre dont ; 1) la modification des propriétés physiques et chimiques des sols contaminés ; 2) la production d'exsudats racinaires, augmentant ainsi le carbone organique ; 3) l'amélioration de l'aération et de la porosité du sol par la libération d'oxygène ; et 4) l'interception et le retardement des mouvements des contaminants (Alkorta & Garbisu, 2001, Susarla et al., 2002). L'assainissement des contaminants organiques ne peut se produire que si les substances sont décomposées en sous-produits relativement non toxiques, tels que le CO₂, NO₃, Cl et NH₄, par le processus de dégradation. Pour certains, la clé de la phytoremédiation des contaminants organiques ne se trouverait donc pas dans l'absorption par les plantes, mais plutôt au niveau de l'interaction entre les plantes et les communautés microbiennes de la rhizosphère. C'est en effet l'activité de ces microorganismes qui dégradent les composés, mais la présence de plantes bonifie cette opération, à l'aide des exsudats tels que les acides organiques et les enzymes (Meagher, 2000).

1.3.5.3 La phytoremédiation en milieu de contamination mixte

La majorité des sites contaminés ne contiennent pas qu'un seul ou une seule sorte de contaminants, mais bien plusieurs substances. Il s'agit là d'une des principales complexités qui rend la décontamination plus laborieuse. On a évalué qu'une proportion de 40 % des sites de déchets dangereux aux États-Unis présente une contamination mixte, soit aux composés organiques et inorganiques. Les métaux les plus fréquemment retrouvés dans ces milieux sont le Cd, le Cr, le Cu, le Pb, le Hg, le Ni et le Zn, alors que pour les contaminants organiques ce sont les HCP, les HAP, les BPC, et autres produits aromatiques chlorés utilisés comme remplacement des BPC, tels que les polychloroterphényles (PCT), et les pesticides comme l'atrazine et la bentazone. Malgré la profusion d'études sur la phytoremédiation des métaux ou des composés organiques, peu d'entre elles ont encore investigué la capacité des plantes dans les sols à contamination mixte (Lin et al., 2008, Singer et al., 2007, Zhang et al., 2009).

Quelques recherches ont permis d'observer que la phytodégradation des contaminants organiques est souvent inhibée en présence d'ET toxiques. En effet, ces derniers peuvent provoquer une diminution de la biomasse microbienne, ainsi qu'entraver une large gamme de leurs réactions, dont les processus de réduction. De plus, leur biodisponibilité peut être modifiée en présence de contaminants organiques, car la bioremédiation des hydrocarbures peut faire décroître le pH du sol, ce qui a généralement une conséquence positive sur la solubilisation des ET. Une absorption trop importante de ceux-ci (bien que souhaitable en phytoremédiation) peut aussi affecter la croissance des plantes, étant donné que l'action des microorganismes associés aux contaminants organiques peut accroître la toxicité des ET. Dans quelques cas, par contre, l'ajout de certains ET a permis au contraire de stimuler l'activité microbienne bénéfique à la phytoremédiation (Batty & Dolan, 2011, Lin et al., 2008, Zhang et al., 2009).

Parmi les pistes envisagées pour gérer ce problème, plusieurs concernent l'utilisation de bactéries modifiées auxquelles on pourrait faire surexprimer certaines enzymes qui sont impliquées dans la dégradation et/ou la tolérance aux polluants afin de créer un système plante-microorganismes plus performant. L'emploi d'un amalgame de différentes espèces de plantes qui pourraient simultanément dégrader les substances organiques, et stabiliser ou

accumuler celles inorganiques, tout en pouvant tolérer les deux types de contaminants semble aussi une approche à privilégier (Batty & Dolan, 2011).

1.3.6 Durée de la phytoremédiation

La question du temps requis pour parvenir à réduire les concentrations dans les sols à des niveaux acceptables, tels que les critères A du MDDELCC, s'avère cruciale pour l'évaluation de la faisabilité d'un traitement de phytoremédiation. Plusieurs chercheurs ont tenté d'estimer cette durée requise en fonction des taux d'absorption des plantes. Ainsi, Robinson et al. (2009) ont calculé le temps pour réduire de moitié les concentrations initiales d'un ET pour deux taux d'extraction différents, soit 5 et 50 kg d'ET/hectare/année. Le Tableau 1-5 présente ces périodes pour différentes concentrations initiales dans les sols. Par contre, l'équation utilisée pour ces calculs évalue le potentiel des plantes pour un élément, une combinaison de ceux-ci complique donc un peu l'estimation. La présence d'une multitude de contaminants est très commune, et puisque peu de plantes peuvent absorber plus d'un ou deux éléments efficacement, l'assainissement peut alors nécessiter la combinaison ou l'alternance de différentes espèces, tel que mentionné précédemment.

Tableau 1-5: Années requises pour réduire de moitié la concentration d'un contaminant dans les sols par phytoextraction selon deux taux initiaux d'extraction (adapté de Robinson et al, 2009)

Concentration initiale dans le sol (mg/kg)	Taux initial d'extraction (kg/ha/an)			
	Taux d'absorption constant		Hétérogénéité temporelle	
	5	50	5	50
50	12	2	50	5
100	24	3	99	10
200	48	5	199	20
400	96	10	398	40
800	192	20	797	80

De façon plus spécifique, Dickinson (2006) a calculé le potentiel d'une plantation de *Salix* pour réduire la contamination d'un sol en Cd. Le Tableau 1-6 présente les résultats des calculs, basés sur les taux d'absorption d'études récemment publiées. Une récolte de saules de 15 tonnes/hectare/année avec une concentration moyenne de 25 mg de Cd/kg de matière sèche diminuerait les concentrations dans les 20 premiers cm de sol de 5 mg Cd/kg de sol (soit 5 ppm) en 27 ans. Il existe évidemment un écart entre les données de terrain et la théorie, en raison surtout de la variabilité spatiale. Sur les sites de friches industrielles, la contamination uniforme de la surface du sol est plutôt rare, on constate généralement la présence de *hotspots* de contamination, autant au niveau des profils verticaux qu'horizontaux.

Avec, notamment, la tendance des racines à croître dans les endroits plus favorables, le taux d'absorption pourrait varier au fil des années. Par contre, il semble raisonnable de considérer que la récolte périodique des feuilles et des troncs de racines à la fin des rotations de culture permettrait d'éliminer au moins 30 % supplémentaire de Cd que ce qui a été calculé. Pour reprendre l'exemple ci-dessus, cette méthode pourrait réduire des sols 5 ppm de Cd en seulement 13,5 années (Dickinson & Pulford, 2005).

Tableau 1-6: Années nécessaires pour réduire de 5 mg/kg la teneur en Cd d'un sol avec une plantation de *Salix sp.* à différentes profondeurs, calculées selon des taux constants d'absorption dans les parties aériennes des plantes (adapté de Dickinson et Pulford, 2005)

Profondeur (cm)	Concentrations de Cd dans les tissus (mg/kg de matière sèche)			
	10	25	50	100
10	33	13	7	3
20	67	27	14	7
40	133	53	28	14

1.3.7 Avantages et limites de la phytoextraction

Les principaux avantages de la phytoremédiation résident dans son coût beaucoup plus faible que les méthodes conventionnelles de décontamination, ainsi que dans son respect pour l'environnement et son acceptabilité sociale. On évalue que de tels traitements représentent 10

à 20 % du coût des méthodes *ex-situ* impliquant une excavation des sols contaminés (Kidd et al., 2009, Li et al., 2010, Van Nevel et al., 2007). De plus, il s'agit d'un processus dont l'énergie solaire est le principal moteur et qui est passif, c'est-à-dire qui n'exige qu'un minimum d'entretien une fois le processus enclenché. La phytoextraction est également pratiquée *in situ* et évite ainsi le trafic lourd. De plus, cette méthode produit considérablement moins de résidus que lorsque l'on doit procéder à une excavation (Tsao & Banks, 2003). Revégétaliser un terrain vague ne peut qu'être bénéfique pour la prévention de l'érosion du sol, pour augmenter le drainage, et pour minimiser les risques d'inondations (Dickinson et al., 2009). En effet, une dense canopée de saules peut intercepter entre 25 et 30 % des précipitations durant la saison de croissance, eau qui s'évapore en partie par la suite (Meers et al., 2007). Le procédé permet aussi de préserver l'intégrité du sol, et de minimiser les perturbations physiques, chimiques et biologiques, autrement très probables au cours d'un processus de décontamination. Il est aussi largement accepté et apprécié par les communautés locales. Finalement, la phytoextraction peut s'insérer au sein d'un ensemble de technologies visant une décontamination plus complète, ou alors misant sur une certaine production d'énergie grâce à la biomasse produite (Batty & Dolan, 2011, Dickinson et al., 2009, Kidd et al., 2009).

Parmi les limites de la phytoremédiation qui ont été identifiées, la longue période nécessaire, soit plusieurs saisons de croissance, semble être le plus grand facteur restrictif à son utilisation. Il faut donc viser les sites qui ne posent pas de risques urgents par rapport à la santé publique, et ceux qui ne font pas l'objet de projets impératifs. De plus, la quantité d'éléments qui peuvent être extraits par une même espèce de plante peut être assez restreinte, les sites avec de multiples contaminations seraient donc à éviter (Dickinson et al., 2009, Tsao & Banks, 2003, Van Nevel et al., 2007). La longueur des racines des plantes impose aussi une profondeur maximum de sol pouvant être décontaminé (Van Nevel et al., 2007). Pour pallier ces deux dernières limitations, il a été suggéré d'associer différentes espèces de plantes complémentaires, dont les systèmes racinaires atteignent des profondeurs distinctes et qui cibleraient des éléments différents (Batty & Dolan, 2011).

Certains problèmes ont également été soulevés quant à une augmentation de la mobilisation des contaminants dans les plantes. Par exemple, ils peuvent plus facilement être intégrés à la chaîne alimentaire si les parties aériennes des plantes sont ingérées par la faune, ou alors si la litière tombée est réintégrée au sol et concentre alors davantage les contaminants, ou contamine des environnements voisins. L'établissement de systèmes racinaires peut également causer ce problème d'absorption par la microfaune, tout comme ils contribuent à pourvoir le sol de pores pouvant faciliter le lessivage des contaminants et donc leur contamination dans l'eau souterraine (Dickinson et al., 2009, Tsao & Banks, 2003, Vamerali et al., 2009, Van Nevel et al., 2007). De plus, certains résultats tendent à démontrer qu'il y aurait un manque de transfert significatif des ET absorbés des racines vers les parties aériennes, ce qui complique la récolte une fois le traitement complété (Vamerali et al., 2009, Vandecasteele et al., 2005). Finalement, certaines limites à la phytoremédiation sont plutôt liées à la nature du terrain contaminé, car son usage est circonscrit, notamment, par les conditions géologiques et climatiques, l'altitude, la température et le type de sol (Singh et al., 2003, Tsao & Banks, 2003).

La phytoremédiation demeure pour le moment une méthode relativement récente et pas encore suffisamment maîtrisée. En effet, plusieurs chercheurs conviennent de l'intéressant potentiel qu'elle représente, tout en soulignant que les résultats ne sont généralement pas suffisamment concluants. C'est pourquoi la recherche se poursuit, et ce, à plusieurs niveaux, dont l'identification de plantes efficaces, ou alors d'amendements afin d'augmenter l'absorption des contaminants par les plantes. Ceux-ci peuvent prendre la forme d'agents chélateurs, d'inoculations de mycorhizes ou de bactéries, ou même de manipulations génétiques des plantes.

2. Objectifs

Ce projet de recherche s'inscrit au sein d'une vaste étude multidisciplinaire, GéoRem (voir www.genorem.ca), et financée par Génome Canada. Six projets distincts, mais imbriqués, ont été menés par un groupe de quatorze chercheurs provenant de quatre institutions québécoises de recherche, avec en tête l'Université de Montréal et l'Université McGill. GéoRem vise à étudier de façon intégrée les différents aspects de la phytoremédiation, soit les interactions sol-saules-microorganismes, et à en perfectionner les méthodes. L'étude conduite plus précisément dans le cadre de ce mémoire porte sur un traitement de phytoremédiation effectué à l'aide d'un système de phytoextraction composé de plants de saules et de mycorhizes sur des sols contaminés par des ET (Cd, Cu, Pb, et Zn) et des composés organiques (BPC, HCP, HAP). Cette expérience a été réalisée dans des pots, au sein d'une serre. Les sols récupérés sur un site pollué de la Rive-Sud de Montréal, divisés en deux grandes catégories, présentaient des niveaux semblables de contamination en ce qui concerne les ET. Les deux catégories C+ et C- sont donc départagées en fonction des niveaux contrastants de contamination organique, où les sols C+ présentent généralement des niveaux de contamination par divers produits dépassant les critères A ou B, alors que les sols C- ne contiennent que des taux négligeables de ces mêmes composés. Dans le cas des sols C+, la phytoremédiation se produit donc dans un contexte de contamination mixte. Pour ce qui est de la contamination inorganique, les deux types de sols affichent des taux faibles à modérés, ce qui représente la cible des méthodes de phytoextraction, du moins dans l'état actuel des connaissances.

Le premier objectif de ce projet de recherche est de mesurer l'effet des inocula mycorhiziens sur l'accumulation des ET dans les plantes. Ainsi, le but est de déterminer si les concentrations en ET accumulés par les plantes, et la biomasse produite par celles-ci sont significativement différentes entre les plantes inoculées par des mycorhizes par rapport à celles non inoculées. Par ailleurs, afin d'évaluer le rendement du traitement de phytoextraction, les changements des concentrations biodisponibles et totales extractibles des ET dans le sol sont quantifiés entre le début de l'expérience, avant la plantation des saules, et à la fin de l'expérience, après la croissance des plantes et ce, pour la rhizosphère et la matrice.

La distribution des ET dans les plantes est aussi un élément important de la phytoextraction, car elle détermine la façon de récolter les plantes, et l'efficacité générale du traitement. Les concentrations d'ET dans les différentes parties des plantes (racines, tiges, feuilles) sont donc mesurées afin de les mettre en relation et de les comparer aux concentrations dans le sol.

Le deuxième objectif est de mesurer l'effet de l'activité des concentrations d'ET dans la rhizosphère et la matrice de sol. Tel que mentionné précédemment, les ET doivent se trouver dans la solution de sol de la rhizosphère pour être pris en charge par la plante, et leur déplacement de la matrice de sol à la rhizosphère peut constituer un facteur limitant à leur absorption par la plante. C'est pourquoi les concentrations d'ET mesurées dans la matrice de sol et la rhizosphère sont prises en compte, afin d'évaluer si ce taux de transfert influence l'accumulation dans la plante. Ce transfert sera estimé à partir de la différence entre les concentrations des deux compartiments et selon la concentration la plus importante entre les deux.

Le troisième objectif concerne les différentes propriétés des sols (concentrations initiales d'ET, pH, carbone organique (Corg), capacité d'échange cationique (CEC), éléments majeurs, oxydes) qui influencent la fertilité des sols, ainsi que la distribution et la biodisponibilité des ET. La question est de savoir comment ces propriétés modifient la capacité des plantes à absorber les ET. En effet, avec des conditions expérimentales utilisant une matrice naturelle comme sol, par rapport à des conditions de laboratoire avec du matériel contrôlé et homogène, il s'agit de considérations qui ne peuvent être ignorées. Finalement, l'effet des contaminants organiques est considéré via la contamination mixte des sols C+, afin d'évaluer comment ceux-ci influencent l'accumulation d'ET et/ou la croissance des plantes.

3. Méthodologie

3.1 Expérience en serre

3.1.1 Échantillonnage du sol

Du sol a été récolté sur le lieu d'une ancienne raffinerie, Pétromont, dans la ville de Varennes sur la Rive-Sud de Montréal. La compagnie Dow Chemical ayant fermé l'usine en 2009, celle-ci a été démantelée et a laissé comme héritage plusieurs hectares de sols non boisés et contaminés à différents niveaux. Certains secteurs ont été excavés, alors que d'autres ont servi au projet GénoRem, en tant que source de sol, mais aussi de lieu de plantation comme tel. L'historique de ce site des Basses-Terres du Saint-Laurent compte également des dépôts d'argile et de limon provenant de la mer de Champlain. Les sols ont été choisis à partir de deux sections dont la contamination, surtout organique, affichait des niveaux contrastants. Ils seront référés en tant que C+ (sols aux plus hauts taux de contamination organique) et C- (sols avec les taux plus faibles). Une masse de chacun des deux sols a d'abord été bien mélangée sur le terrain afin d'assurer l'homogénéité du matériel avant le remplissage des pots. Un total de 156 pots de 15 litres ont été remplis avec une moyenne de $11,1 \pm 0,7$ kg (entre 8,6 et 12,7), soit 78 pots avec le sol C+ et 78 avec le sol C-. Une membrane de nylon a été placée dans le fond de chaque pot avant de les remplir, afin de minimiser la perte de particules. Puis, chacun des pots a été frappé sur le sol à 12 reprises afin d'homogénéiser la densité de la matrice.

3.1.2 Choix du matériel

Le génotype de saule *Salix purpurea* (saule pourpre) du cultivar *Fish creek* a été désigné pour l'expérience en serre. Natif de l'Europe, ce cultivar est caractérisé par une production de biomasse importante. De plus, le séquençage de son génome a été complété (Bell et al., 2014). Tel qu'expliqué précédemment, le potentiel de plusieurs génotypes d'arbustes de saules pour des fins de phytoremédiation a déjà été largement étudié, car les saules possèdent les

caractéristiques recherchées ; production de biomasse importante, accumulation d'ET élevée, racines profondes, tolérance aux conditions climatiques rudes et à la toxicité des contaminants organiques et inorganiques (Jensen et al., 2009). Dans le cadre du projet GénoRem, onze cultivars de saule ont été plantés (voir Bell et al, 2013 pour davantage de détails) sur les sites de Varennes et de Valcartier, le deuxième emplacement de l'étude sur le terrain, pour sa part situé dans le Bouclier canadien, dans la région de Québec. *Salix purpurea* a été retenu pour l'expérience en serre suite aux essais concluants sur le terrain et à son avantage comparatif quant à la production de biomasse. Des boutures de saule ont été achetées, plantées dans des terreaux stériles à la mi-hauteur, et cultivées pendant huit semaines. Les terreaux, densément colonisés par les racines, et leurs tiges atteignant 20 cm ont ensuite été transplantés dans les pots. La moitié de ces plants ont été inoculés avec des souches de mycorhizes à arbuscules de l'espèce *Glomus irregulare*, qui a été choisie en raison de sa capacité à coloniser les racines de saules et à faire augmenter la croissance de ceux-ci, et parce qu'on la retrouve souvent en milieux contaminés (Meharg, 2003).

Les sols n'ont pas été stérilisés avant d'être utilisés pour le traitement, malgré la présence quasi certaine de souches de mycorhizes indigènes qui pourraient compliquer l'interprétation des résultats du facteur inoculation de *Glomus irregulare*. Des chercheurs ont en effet parfois recours à la stérilisation des sols à l'aide de différents traitements afin d'éviter la présence de microorganismes non contrôlables et non mesurables. Par contre, cette méthode génère d'autres problèmes, tels que l'élimination de bactéries importantes dans les écosystèmes et pour le développement habituel des plantes. De plus, l'irradiation gamma, souvent utilisée, fait accroître considérablement les concentrations d'ammonium (NH₄), ce qui peut faire stimuler artificiellement la croissance des plants (Joner & Leyval, 2001).

3.1.3 Dispositif expérimental

L'expérience s'est déroulée aux serres expérimentales de la section de l'Institut de recherche en biologie végétale (IRBV) du Jardin botanique, situé à Montréal. Une saison de croissance a été simulée d'octobre 2011 à avril 2012. Pour l'ensemble du projet GénoRem, un dispositif de parcelles divisées (*split-plot*) a été utilisé avec les 156 pots, dont 36 sont

demeurés sans plant (6 pots contrôles par bloc) (Figure 3-1). Six blocs de 26 pots ont été distribués de façon aléatoire. La moitié des pots avec des plants de saules a été inoculée avec une souche de MA (identifiés G+), alors que l'autre moitié ne l'a pas été (G-). Chaque bloc comprenait les quatre traitements (C+ G+ ; C+ G- ; C- G+ ; et C- G-) en cinq répliques (20 pots), ainsi que 3 pots contrôles par type de sols (6 pots contrôles). Cela a permis d'effectuer divers échantillonnages espacés temporellement et servant à différents objectifs du projet GénoRem.

Traitement	Bloc 1	Bloc 2	Bloc 3	Bloc 4	Bloc 5	Bloc 6
C+ G+	x x E x x	E x x x x	x x x E x	x x E x x	x x x x E	x x x E x
C+ G-	E x x x x	x x x E x	x x E x x	E x x x x	x x x E x	x x x E x
C- G+	x x x x E	x E x x x	E x x x x	x x E x x	x x x x E	E x x x x
C- G-	E x x x x	E x x x x	x E x x x	x x x E x	x E x x x	x x E x x
Contrôle C+	x E x	E x x	x E x	E x x	x x E	x E x
Contrôle C-	x E x	x x E	E x x	x x E	E x x	E x x
Total de pots	26	26	26	26	26	26

Figure 3-1: Schéma du dispositif expérimental en serre. Les « x » et les « E » représentent chacun des pots, et les « E » représentent spécifiquement les pots échantillonnés pour cette étude.

3.1.4 Conditions expérimentales

Les conditions de la serre ont été contrôlées afin d'optimiser la croissance des saules. La température était maintenue à 20 °C le jour et de 18 °C la nuit ; l'humidité de l'air à 50 % ; et l'intensité de l'éclairage entre 200 et 300 $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ pendant 16 heures par jour. L'arrosage était fait manuellement jusqu'à la capacité d'absorption maximum des sols avec de l'eau déionisée, à tous les deux à trois jours. Afin de réduire le risque de maladies et de mortalités, un traitement fongique au bicarbonate de potassium et un antiparasitaire à l'aide d'huile horticoles ont été appliqués aux plants de saules pendant l'expérience, en couvrant les sols de feuilles d'aluminium afin de les protéger. Aucun fertilisant ou amendement n'a par ailleurs été utilisé pour stimuler la croissance des plantes.

3.1.5 Échantillonnage

Différentes collectes et analyses ont été effectuées dans le cadre du projet global. Pour la présente étude, l'échantillonnage a eu lieu le 26 avril 2012, soit environ six mois après la plantation. Celui-ci a ciblé aléatoirement un pot par traitement pour chacun des six blocs, pour un total de 36 pots (Figure 3-1) ainsi que les plantes associées. Les saules ont d'abord été coupés à la base de la tige à l'aide de petits sécateurs, nettoyés entre chaque plante avec des lingettes de laboratoire. Le bloc racinaire compris dans ce qui était le terreau de départ était ensuite déterré avec une truelle, également nettoyée entre chaque opération, puis en le tirant soigneusement hors des pots (avec des mains gantées). Les racines étaient secouées vigoureusement au-dessus du pot afin de récupérer la matrice. Le matériel biologique était divisé en trois parties ; racines, tiges et feuilles. Pour le sol, deux prélèvements étaient nécessaires ; d'abord le sol de la rhizosphère qui était récolté avec des outils de plastique en décapant doucement les particules en contact proximal (< 2 mm) avec les racines fines. Après une homogénéisation du sol exempt de racines restant dans les pots, un échantillon de ce sol matrice était ensuite collecté. Pour les pots contrôles sans plante, le sol a été récupéré à une profondeur d'environ 5 cm.

3.2 Analyses en laboratoire

3.2.1 Préparation des échantillons

Au Laboratoire de pédologie du Département de géographie de l'Université de Montréal, les échantillons de sol ont été séchés à l'air, broyés et tamisés à 2 ou 0,5 mm. Les racines ont été rincées avec de l'eau déionisée pour enlever les particules de sol. La biomasse végétale a été séchée au four à 60 °C, puis pesée, et finalement moulue à l'aide d'un moulin à lames de marque Thomas Wiley d'une dimension de 20 mesh.

3.2.2 Concentration des éléments traces dans le sol

Les éléments Cd, Cu, Pb et Zn ont été dosés sur les échantillons de sol d'avant (T0) et après le traitement de phytoremédiation (T1), et pour la rhizosphère (Rz) et la matrice (Ma) dans le deuxième cas. Deux fractions de la phase solide ont été analysées ; la fraction soluble à l'eau, obtenue par extrait à l'eau (H₂O) (Séguin et al., 2004) et la fraction totale disponible, extraite par digestion à l'acide nitrique (HNO₃) (Wilson et al., 2005). Les concentrations avant et après l'étude ont aussi été extraites pour les pots contrôles.

Dans un premier temps, la fraction soluble est utilisée pour estimer les concentrations biodisponibles des éléments, bien que l'ensemble de celles-ci n'y soit pas entièrement représenté. En effet, on considère maintenant que la fraction échangeable des éléments, soit les complexes métallo-organiques et certains chélates, est aussi comprise dans ce qui biodisponible. Par contre, les éléments trouvés sous ces formes sont très difficiles à mesurer, et très variables, car de nombreuses interactions peuvent modifier leurs liens chimiques (Nolan et al., 2003). Il est tout de même généralement convenu que l'extrait à l'eau distingue raisonnablement et simplement les concentrations disponibles de celles qui ne le sont vraiment pas (Stevenson, 1999).

Pour ces extraits à l'eau, un rapport sol : H₂O de 1 : 10 a été utilisé. 1,5 g de sol (tamisé à 0,5 mm) était mélangé à 15 ml d'eau ultra-pure (milli-Q) dans un tube à centrifugeuse, puis les échantillons ont été remués dans un brasseur automatique pendant deux heures. Ils ont ensuite été centrifugés pendant 15 minutes à 1400 g, puis des aliquotes ont été réservées pour des mesures ultérieures de pH et de conductivité électrique. Le reste de l'échantillon a été filtré avec un filtre de polycarbonate de 0,4 µm. Afin d'aider à la conservation des solutions, 0,1 ml d'HNO₃ (20 % - *Trace Metal Grade*) y a été ajouté. Les ET ont été finalement dosés par un spectromètre de masse à torche au plasma (*inductively coupled-plasma* : ICP-MS) (Perkin Elmer NexION 300). Ces valeurs seront référées comme étant les concentrations solubles, ou biodisponibles.

Dans un deuxième temps, l'extraction à l'acide nitrique permet d'estimer les concentrations dites totales disponibles. Encore une fois, cette méthode ne permet pas de récupérer tous les éléments, car la dissolution est inopérante pour les minéraux silicates. Il a

tout de même été établi que la digestion à l'HNO₃ s'avère efficace, puisque les ET ne sont majoritairement pas associés aux minéraux silicates (Ure, 1995).

Pour ce faire, des échantillons de 0,20 g de sol tamisé à 0,5 mm ont été mélangés à 2 ml d'HNO₃ concentrée dans des tubes à digestion en pyrex, puis cette solution a reposé au moins 12 heures sous une hotte. Les échantillons ont ensuite été digérés dans un bloc chauffant à 120 °C pendant cinq heures, avec un brassage manuel à la tige de pyrex aux 30 minutes. Puis, de l'eau ultra-pure (Milli-Q) a été ajoutée pour ajuster le volume de la solution à 50 ml. La suspension a été décantée pendant 24 heures afin de conserver le surnageant sans avoir recours à une étape de filtration (Wilson et al., 2005). Tous ces extraits ont ensuite été analysés par ICP-MS pour quantifier les éléments Cd, Cu, Pb et Zn. Lorsque nécessaires, des dilutions ont été effectuées à l'aide d'un dilueur automatique. Ces valeurs seront référées comme étant les concentrations totales.

Pour les deux types de méthodes, les extractions ont été effectuées en triplicata afin d'assurer la précision des données. La qualité et l'exactitude des données ont été garanties par la présence d'échantillons contrôles internes et de blancs insérés à chaque 20 échantillons. La limite de détection (LDM), qui correspond à la plus faible concentration détectée par l'appareil de mesure, a été établie avant chaque séance d'analyse à l'aide d'un échantillon contrôle. Cette solution est composée de faibles concentrations connues en ET, et est analysée par l'ICP-MS. La LDM est alors déterminée selon le plus faible niveau détectable par l'appareil.

3.2.3 Concentrations des éléments traces dans les plantes

Dans l'optique de connaître les taux d'accumulation d'ET par les plantes, la méthode d'extraction des concentrations totales a également été employée sur les parties (racines, tiges et feuilles) broyées des plants de saules (Wilson et al., 2005). L'extraction à l'HNO₃, puis l'analyse par ICP-MS ont permis d'y mesurer les concentrations en Cd, Cu, Pb et Zn. Les mêmes méthodes expliquées précédemment pour s'assurer de la précision et l'exactitude des données ont été employées.

3.2.4 Analyses physiques et chimiques du sol

Afin de caractériser les sols étudiés, diverses propriétés physico-chimiques ont été mesurées sur les échantillons. Les variables étudiées (pH, CÉ, carbone organique (C_{org}), capacité d'échange cationique (CEC), éléments majeurs) représentent les caractéristiques de bases relatives à la fertilité du sol, et jouent des rôles primordiaux sur les cycles biochimiques des ET (Stevenson, 1999).

Ces propriétés ont été mesurées sur les échantillons tamisés à 2 mm pour les sols de la rhizosphère et de la matrice. Le pH dans l'eau (pH_{H_2O}) et la conductivité électrique (CÉ) ont été mesurés avec de l'eau déionisée à un ratio sol : eau de 1 : 1 à l'aide respectivement d'un pH-mètre *Radiometer PHM83* doté d'une électrode combinée en verre, et d'un *Radiometer CM82* (Hendershot et al., 2008).

Les contenus en carbone organique (C_{org}), associés au contenu en matière organique, ont été estimés avec la méthode du dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) de Walkley-Black (Carter, 1993). Environ 1 g d'échantillon de sol (tamisé à 0,05 mm) a été utilisé pour titrer le $K_2Cr_2O_7$ résiduel avec du sulfate ferreux ($FeSO_4$).

La capacité d'échange cationique (CEC) a été estimée par la méthode du chlorure de baryum ($BaCl_2$) (Hendershot et al., 2008).

Pour chaque échantillon de sol, les contenus extractibles pour les éléments majeurs Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn et Na ont été mesurés à l'aide d'un spectromètre à absorbance atomique (AAS : Varian AA-1475) (Hendershot et al., 2008).

Les analyses pour les composés organiques ont été effectuées au laboratoire Maxxam Analytics (Montréal, Québec), afin de mesurer les teneurs en biphényles polychlorés (BPC), hydrocarbures pétroliers (HCP) (les composés avec des longueurs de chaînes de C10 à C50), et en hydrocarbure aromatiques polycycliques (HAP).

3.3 Traitement statistique des données

Le jeu de données a d'abord été vérifié afin de repérer les valeurs aberrantes qui pouvaient s'y trouver. Un des pots du traitement C- G+ a ainsi été retiré de l'ensemble des données, car les valeurs obtenues semblaient avoir été biaisées par une erreur lors de la préparation, de l'analyse ou par l'appareil de mesure. Bref, elles s'éloignaient considérablement de l'ensemble des autres valeurs obtenues, si bien que le doute qu'elles soient exactes était trop important.

Il importe aussi de considérer les différentes limites de détection des méthodes (LDM) utilisées, en fonction des appareils de mesure et des protocoles. Les LDM qui ont été déterminées pour les différentes analyses sont présentées au Tableau 3-1 pour l'ensemble des ET et des composés organiques étudiés.

Tableau 3-1: Limites de détection des méthodes de mesure en fonction des éléments traces et des composés organiques

ET ou composé	Extraction à l'H ₂ O	Extraction à l'HNO ₃ - sols		Extraction à l'HNO ₃ - plantes	
	Moyenne	Inférieure	Supérieure	Inférieure	Supérieure
 (µg/L)				
Cd	0,032	0,004	0,040	0,002	0,072
Cu	0,912	0,078	1,716	0,049	1,048
Pb	0,151	0,028	0,889	0,087	0,969
Zn	0,962	0,513	2,003	1,235	4,29
BPC (mg/kg)	0,017				
HCP (mg/kg)	100,00				
HAP (mg/kg)	0,100				

Les analyses statistiques ont majoritairement été réalisées avec le logiciel libre R (R Core Team, 2013), et les graphiques et calculs simples avec le logiciel d'Office Excel (2011). Un seuil de signification de $\alpha = 0.05$ a été choisi pour les tests statistiques. La normalité des distributions a été testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk. Une transformation logarithmique a été appliquée sur les distributions pour les normaliser, le cas échéant. Dans la majorité des cas, cela n'a pas permis aux distributions d'atteindre la normalité. Des tests non-paramétriques (par

permutations) ont alors été sélectionnés.

3.3.1 Analyses quantitatives

Les quantités totales (ou contenus totaux) d'ET accumulés par chacune des parties de plantes, et dans le sol de chacun des pots (avant et après l'expérience) ont été calculées ainsi :

$$\text{Quantité (mg/ par partie de plante ou par pot)} = \text{concentration de l'élément (mg/kg masse sèche)} * \text{masse de la matière sèche (kg)}.$$

Afin de mesurer l'effet global de phytoremédiation dans les pots, des pourcentages de décontamination ont été calculés pour les quantités en ET extraits à l'HNO₃ dans chacun des pots de l'expérience avec l'équation suivante :

$$\% \text{ de décontamination} = (\text{quantité ET à T0} - \text{quantité ET à T1}) / \text{quantité ET à T0} * 100.$$

3.3.2 Calculs des ratios de concentrations des éléments traces

Afin d'obtenir des valeurs sans unité sur l'accumulation des ET par les plantes qui soient comparables avec d'autres jeux de données de la littérature, des ratios ont été calculés. Ainsi, le facteur de concentration biologique (FCB) correspond à :

$$\frac{\text{concentration (mg/kg ou mg/pot) d'un ET dans une partie de plante ou dans l'ensemble de la plante}}{\text{concentration totale extraite à l'acide nitrique l'HNO}_3 \text{ (mg/kg) de cet ET dans le sol.}}$$

Ce rapport a été calculé pour chacun des ET. Un FCB supérieur à 1 correspond à une absorption active de l'ET par la plante (Bissonnette et al., 2010). Puis, afin de mesurer le taux de transfert des ET une fois absorbés par la plante, le rapport aérien/souterrain (ratio A/S) a été calculé ainsi :

$$\frac{\text{concentration (mg/kg) d'un ET dans les parties aériennes (feuilles et tiges)}}{\text{concentration (mg/kg) de ce ET dans les racines.}}$$

Un ratio supérieur à 1 signifie dans ce cas un transfert actif de l'ET des racines vers les parties

aériennes (Dos Santos Utmazian & Wenzel, 2007).

3.3.3 Calculs de l'effet des facteurs étudiés

C'est avec le test statistique d'analyse de variance (ANOVA) que l'effet des facteurs a été mesuré. L'ANOVA est un modèle linéaire utilisé en statistiques afin de comparer des échantillons (la variable réponse), et de déterminer s'ils sont significativement semblables ou non. Les facteurs sont donc utilisés comme des valeurs explicatives. L'ANOVA (à deux facteurs dans ce cas) teste les moyennes des groupes de la variable réponse, c'est-à-dire ; est-ce qu'un des facteurs a des effets sur les résultats, si bien qu'au moins une des moyennes des échantillons n'est pas égale aux autres. Ce test est également approprié lorsque le nombre d'observations est faible.

L'effet des types de sols (C+ ou C-), ainsi que la présence ou non de mycorhizes (G+ et G-) a été évalué avec une ANOVA à deux facteurs avec les concentrations solubles du sol (dans la rhizosphère et la matrice) et celles accumulées dans les plantes. Une analyse de variance déséquilibrée à permutations a été appliquée, en premier lieu pour pallier aux données manquantes du pot retiré, et deuxièmement parce qu'avec les permutations, les distributions de données n'ont pas à répondre aux postulats de l'ANOVA classique.

Pour tester l'effet des types de sols et des inoculations, des ANOVA (déséquilibrée à permutations) à deux facteurs ont aussi été appliquées sur les données de biomasse des plantes au T1, afin de voir si et comment la croissance des plantes a pu être influencée.

Puis, des ANOVA à permutations à deux facteurs ont été employées pour analyser s'il y avait des différences significatives entre les concentrations HNO_3 avant et après le traitement, et entre les compartiments matrice et rhizosphère, et ce pour chacun des éléments. Les concentrations T0 ont été répétées pour les deux compartiments (fictifs) Rz et Ma, afin de comparer le même nombre d'échantillons (n) entre T0 et T1, et parce qu'effectivement les deux compartiments Rz et Ma du T1 représentent une évolution du même sol de départ au T0.

3.3.4 Calculs multivariés de l'effet des facteurs

Une approche multivariée, mais de nouveau avec le test d'analyse de variance, soit l'analyse de variance multivariée (MANOVA) a été employée pour évaluer les effets des facteurs « mycorhize » et « niveau de contamination » sur l'accumulation des ET dans les différentes parties des plantes. La MANOVA fonctionne sur le même principe que l'ANOVA, elle permet de tester l'influence des facteurs sur au moins deux groupes de variables réponses. Elle permet aussi de tester l'interaction entre les variables réponses entre elles, et entre les variables explicatives entre elles également.

Des MANOVA ont aussi été utilisées pour juger de la différence des concentrations d'ET selon les facteurs « mycorhize » et « types d'extraction » (à l'H₂O ou à l'HNO₃). Les MANOVA ont été effectuées à l'aide d'analyses canoniques de redondance (RDA), car elles permettent de tester la relation entre des variables réponses et explicatives avec des régressions multiples et créent de nouvelles variables de combinaisons linéaires. La fonction *rda* de la librairie *vegan* a été utilisée pour tester l'interaction entre les variables, puis l'influence des deux facteurs.

3.3.5 Calculs multivariés canoniques discriminants

L'analyse canonique permet le traitement de plusieurs jeux de données conjointement. Plus précisément, l'analyse discriminante vise à utiliser des combinaisons de variables explicatives pour prédire l'appartenance à des groupes définis par les variables réponses. L'analyse calcule des fonctions canoniques discriminantes qui maximisent les différences entre les groupes que l'on cherche à discriminer et qui minimisent celles-ci à l'intérieur des groupes (Legendre & Legendre, 2012).

Des analyses multivariées canoniques discriminantes (*linear discriminant analysis* ou LDA) ont été effectuées sur les données pour établir les liens entre les variables. Les concentrations des ET (extraits à l'HNO₃) dans les différentes parties des plantes ont été mises en relation avec les concentrations des éléments totaux extractibles. Cela a permis d'évaluer si les différentes parties des plantes peuvent être discriminées quant à leur accumulation d'ET.

La fonction *betadisper* de la librairie *vegan* a d'abord été employée pour vérifier l'homogénéité de la variance dans les groupes déterminés, et une transformation log a été appliquée lorsque ce n'était pas le cas. Puis, c'est la fonction *lda* de la librairie *Mass* qui a été utilisée pour l'analyse discriminante comme telle.

3.3.6 Calculs de l'effet des propriétés du sol

Afin d'évaluer la distribution de la variance des concentrations et des quantités d'ET extraits à l'HNO₃, dans les parties aériennes et souterraines des plantes, trois groupes de variables explicatives ont été étudiés. À l'aide de la fonction *varpart* de la librairie *vegan*, la partition de la variance a été calculée dans le logiciel *R* en fonction de: 1) les concentrations d'ET extraits à l'HNO₃ dans les sols à T0; 2) huit propriétés chimiques des sols liées à la fertilité (pH, CÉ, C_{org}, CEC, Ca-H₂O, Mg-H₂O, K-H₂O, Mn-H₂O), et finalement 3) les concentrations des oxydes de Fe et d'Al dans les sols à T0, qui sont susceptibles de se lier avec les ET et d'en influencer la mobilité. Des régressions linéaires simples ont aussi été effectuées pour mettre en relation les concentrations dans les plantes (variables dépendantes) avec les concentrations initiales totales dans les sols (variable indépendante).

4. Résultats

Par souci de concision et de simplification de l'analyse des résultats, ce sont les moyennes pour l'ensemble des pots ou des plantes par traitement qui ont été prises en compte et comparées, et non pas les valeurs à T0 et T1 pour un même pot, ou pour un pot et la plante associée. Les résultats obtenus indiquent donc le sens de la tendance, mais la variation inter-pots cause des écarts-types importants, qu'il importe de garder en considération. Dans les cas où les différences entre des groupes de données n'ont pas été mesurées par des tests statistiques, l'évaluation des tendances a été faite par comparaison visuelle des graphiques. Puisque l'étude de ces processus naturels est complexe, la variabilité spatiale et temporelle, ainsi que le nombre restreint d'échantillons, tendent à masquer les tendances qui ont pu être observées. Ainsi, bien que les différences mentionnées ici ne s'avèrent pas toutes significatives, il nous a semblé pertinent d'en discuter, car il peut s'agir, notamment, de pistes vers lesquelles poursuivre la recherche.

4.1 Les sols

4.1.1 Portrait physique et chimique des sols aux T0 et T1

Bien que les niveaux de contamination des sols C+ et C- étaient différents, en raison de leurs utilisations antérieures respectives divergentes, leurs propriétés physico-chimiques étaient similaires. Pour ce qui est de la texture, les sols C- avaient en moyenne un contenu en sable-limon-argile de 14-50-36%, et les sols C+ de 16-52-32%, ce qui les situe tous les deux dans la classe texturale «loam limoneux argileux», selon le Système canadien de classification des sols (UCN, 1998). De façon générale, la texture loam est la plus adéquate pour l'agriculture, car elle conserve bien son humidité tout en maintenant un bon niveau de drainage. Les sols loameux présentent également un bon équilibre au niveau de la rétention des nutriments, et ont une texture plastique. Par contre, ce sont aussi les sols les plus menacés par l'érosion ; le ruissèlement (érosion hydrique) peut atteindre une vitesse élevée sur les terres en pentes abruptes ou longues (Canada AA, 2014).

Le pH des sols était également assez semblable pour tous les traitements (Tableau 4-1). Les pH-H₂O mesurés sur tous les sols de l'expérience avaient une moyenne de 7,1. Avant l'expérience, les sols C+ affichaient un pH en moyenne de 7,08 alors qu'il était de 7,05 pour les sols C-. Après l'expérience, les sols de la matrice C+ avaient en moyenne un pH de 7,02, et ceux de la matrice C- 7,19, alors qu'il était de 7,17 pour les sols C+ et C- de la rhizosphère. On observe par contre une grande variabilité entre les pots au sein d'un même traitement. La moyenne de la conductivité électrique de tous les sols de l'expérience était de 318,9 µS/cm, et elle est plus élevée pour les sols au T1 qu'au T0. Pour ce qui est du C organique, les valeurs avaient une moyenne de 3,4 %. Les sols C+ en contiennent davantage que ceux C-, et ce, avant et après l'expérience. Les valeurs de CEC mesurées présentaient une moyenne de 31,2 cmol(c)/kg, et les sols avant et après l'expérience, avec et sans mycorhizes présentent des concentrations similaires.

Différents éléments majeurs ont aussi été mesurés dans les sols de l'expérience. En ordre d'importance, pour ce qui est d'abord des cations, les valeurs de Ca-H₂O pour tous les sols avaient une moyenne de 24,4 cmol/kg ; celles de Mg-H₂O de 6,0 cmol/kg ; celles de Na-H₂O de 4,2 cmol/kg; celles de K-H₂O 2,4 mmol/kg ; celles d'Al de 0,7 mmol/kg et finalement celles de Mn-H₂O et de Fe-H₂O de 0,1 mmol/kg.

Tableau 4-1: Moyennes (X) et écarts-types (sd) des caractéristiques physiques et chimiques des sols pour chaque traitement (n=6, sauf C- G+ où n=5) au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1)

Compartiment	Sol ^a	T0 - Matrice				T1 - Matrice				T1 - Rhizosphère			
		C+		C-		C+		C-		C+		C-	
	Mycorhize ^b	G+	G-	G+	G-	G+	G-	G+	G-	G+	G-	G+	G-
Propriétés (et unités)													
Masse	X	10,9	10,6	10,5	11,1	10,8	10,5	10,3	11,0	0,13	0,10	0,21	0,18
(kg)	sd	0,46	1,13	0,28	0,34	0,43	1,16	0,33	0,35	0,08	0,04	0,05	0,03
pH-H ₂ O	X	7,17	7,01	7,09	7,12	7,17	6,98	7,08	7,20	7,21	7,13	7,13	7,21
	sd	0,08	0,10	0,10	0,14	0,10	0,18	0,03	0,14	0,15	0,26	0,09	0,08
C.É. ^c	X	260	278	178	157	359	338	353	330	507	480	374	440
(μS/cm)	sd	50,7	112	75,8	27,7	51,3	74,8	59,4	47,4	124	161	61,8	233
Corg ^c	X	3,96	4,43	3,17	2,85	3,53	3,45	2,66	2,66	3,82	3,97	2,88	2,79
(%)	sd	0,43	0,45	0,60	0,20	0,18	0,28	0,30	0,29	0,21	0,43	0,18	0,52
CEC ^c	X	32,4	32,4	31,3	30,2	30,8	31,0	31,0	30,1	33,9	31,6	31,9	30,2
(cmol(c)/kg)	sd	1,64	2,32	1,91	2,49	0,73	0,88	0,99	1,23	2,91	2,73	1,99	2,47
Ca – H ₂ O	X	26,0	25,8	24,6	23,3	24,5	24,4	23,9	23,1	27,3	24,8	24,8	23,1
(cmol(c)/kg)	sd	1,44	2,16	1,71	2,16	0,63	0,83	0,80	1,28	2,94	2,40	1,87	1,89
Mg – H ₂ O	X	5,84	6,16	6,16	6,25	5,59	5,84	6,16	6,25	5,48	5,71	6,08	6,12
(cmol(c)/kg)	sd	0,56	0,40	0,23	0,38	0,28	0,30	0,23	0,38	0,23	0,27	0,10	0,64
K – H ₂ O	X	1,33	1,00	3,68	4,34	0,47	0,95	2,66	2,50	2,21	2,44	3,11	3,26
(mmol(c)/kg)	sd	0,50	0,49	1,05	1,44	0,25	0,40	1,10	0,75	1,33	1,43	0,46	1,40
Na – H ₂ O	X	3,98	3,62	1,03	1,50	5,81	6,07	1,03	5,39	6,77	6,86	5,12	5,06
(mmol(c)/kg)	sd	0,75	1,12	0,22	0,26	0,40	0,61	0,22	0,44	0,22	0,59	0,21	0,38
Mn – H ₂ O	X	0,21	0,25	0,09	0,08	0,16	0,19	0,06	0,04	0,09	0,09	0,08	0,07
(mmol(c)/kg)	sd	0,04	0,05	0,02	0,02	0,07	0,12	0,02	0,03	0,01	0,01	0,02	0,02
Fe – H ₂ O	X	0,13	0,17	0,00	0,05	0,16	0,16	0,26	0,16	0,11	0,05	0,32	0,27
(mmol(c)/kg)	sd	0,10	0,14	0,00	0,13	0,27	0,18	0,14	0,18	0,17	0,13	0,23	0,13
Al – H ₂ O	X	0,22	0,11	0,00	0,33	0,11	0,22	1,06	1,32	1,66	1,34	1,60	1,11
(mmol(c)/kg)	sd	0,34	0,27	0,00	0,56	0,27	0,34	1,11	0,93	0,70	0,73	0,89	0,55

a: C+ = sol contaminé et C- = sol non contaminé par des composés organiques

b: G+ = Inoculé avec la mycorhize *Glomus irregulare* ; G- = sans inoculation de la mycorhize

c: C.É.= conductivité électrique ; Corg= carbone organique ; CEC= capacité d'échange cationique

4.1.2 Les contaminants organiques

Les sols C-, avant et après l'expérience, ne présentaient pas de contamination significative aux composés organiques (Tableau 4-2). Seulement des traces négligeables de BPC ont été détectées dans ces sols. Pour ce qui est des sols C+, des concentrations considérables de composés organiques appartenant à différentes familles ont été mesurées. Les BPC représentent un ensemble de 209 composés organochlorés aromatiques provenant du biphenyle, et sont synthétisés industriellement. Ils ont été commercialisés en Amérique du Nord à partir de 1929, et leur fabrication a ensuite été interdite en 1977. Ils se retrouvent par contre encore largement dans l'environnement, de par leur persistance et leur mobilité (Canada ECC, 2014). Les sols C+ au T0 présentaient dans ce cas-ci une concentration moyenne de 0,27 mg/kg, puis des concentrations similaires au T1. Ces valeurs se situent au-dessus du critère A, soit la limite maximale recommandée pour l'utilisation des sols à des fins agricoles, mais ne dépassent pas le critère B, soit celui pour l'utilisation résidentielle.

Les HCP sont un mélange de composés organiques présents sous différentes formes (dans ce cas, les congénères C10 à C50 ont été répertoriés), qui sont généralement présents dans l'huile, le pétrole, le charbon, le bitume, ou les différents dérivés de ces matières. Ils figurent parmi les contaminants du sol les plus répandus au Canada, et ils sont toxiques et persistants (Canada S, 2013). Pour les sols au T0, plusieurs concentrations se sont avérées supérieures au critère B, et même pour certaines au critère C, soit celui pour l'utilisation industrielle des sols (Tableau 4-2). Au T1, les sols G+ atteignent en moyenne le critère A, alors que ceux de G- dépassaient encore le critère B. Finalement, quatre types de composés d'HAP ont aussi été mesurés (Tableau 4-2). Les HAP proviennent de sources naturelles (feux de forêt) et anthropiques (alumineries, usines métallurgiques, déversements pétroliers). Présents dans tous les milieux environnementaux, ils s'avèrent également très toxiques et persistants (Canada S, 2013). Pour ce qui est d'abord de l'anthracène, la concentration avant l'expérience dépassait le critère B, alors qu'après, les concentrations G+ et G- ne dépassaient que le critère A. Dans le cas du chrysène, au T0, la moyenne dépassait le critère B, puis au T1 avec G+ et G-, les concentrations moyennes, bien qu'inférieures, atteignaient encore le critère B. Finalement, les concentrations de phénanthrène et de pyrène suivaient une tendance semblable, soit une concentration initiale supérieure au critère B, puis au T1, avec G+, des

taux entre le critère A et B, alors qu'elles sont encore supérieures au critère B dans le cas des sols G-.

Tableau 4-2: Concentrations moyennes et écarts-types (mg/kg) des composés organiques dans la matrice des sols au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1)

Temps Contamination ^a Mycorhize ^b	T0		T1			
	C+	C-	C+		C-	
			G+	G-	G+	G-
Biphényles polychlorés (BPC) (somme des congénères)						
	0,27 ± 0,1	0,03 ± 0,02	0,21 ± 0,06	0,20 ± 0,06	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01
Hydrocarbures pétroliers (HCP)						
C10-C50 ^d	2100 ± 1900	< LDM ^c	300 ± 62,5	877 ± 488	< LDM	< LDM
Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)						
Anthracène	11,8 ± 13,1	< LDM	2,87 ± 1,87	6,23 ± 3,2	< LDM	< LDM
Chrysène	3,17 ± 3,15	< LDM	1,27 ± 0,58	5,87 ± 0,85	< LDM	< LDM
Phénanthrène	21,9 ± 28,6	< LDM	1,67 ± 0,95	8,2 ± 6,88	< LDM	< LDM
Pyrène	16,3 ± 15	< LDM	3,67 ± 2,8	13 ± 5,53	< LDM	< LDM

a : C+ = sols contaminés et C- = sols non contaminés par des composés organiques.

b : G+ = Inoculé avec la mycorhize *Glomus irregulare* et G- = sans inoculation de la mycorhize

c : LDM= limite de détection de la méthode : 100 mg/kg pour les HCP et 0,10 mg/kg pour les HAP

d : Somme des composés organiques aliphatiques avec des longueurs de chaîne de C10 à C50

Notons qu'ici la présence des mycorhizes a semblé assister les plantes à la dégradation des composés organiques. Dans le cas des HCP et des HAP (avec les sols C+), les concentrations à T1 étaient tous inférieures avec les sols mycorhizés que pour les sols G-.

4.1.3 Éléments traces solubles à l'H₂O dans les sols

4.1.3.1 Concentrations

Les ET Cd, Cu, Pb et Zn ont été mesurés dans les sols avant et après la croissance des saules dans les pots. Les éléments extraits à l'H₂O permettent d'en estimer la portion biodisponible dans les sols (Tableau 4-3).

Tableau 4-3: Moyennes et écart-type des concentrations en éléments traces solubles dans H₂O dans les sols au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1) (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

G ^a	T ^b	Compartiment	Sol C+ ^c				Sol C-			
			Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
..... mg/kg										
G+	T0	Matrice	0,001 ± 0,0004	0,45 ± 0,05	0,01 ± 0,002	0,05 ± 0,02	0,002 ± 0,0002	0,35 ± 0,06	0,01 ± 0,002	0,05 ± 0,01
	T1	Matrice	0,002 ± 0,0004	0,50 ± 0,03	0,01 ± 0,004	0,06 ± 0,02	0,002 ± 0,0004	0,43 ± 0,05	0,01 ± 0,001	0,05 ± 0,01
	T1	Rhizosphère	0,001 ± 0,0003	0,50 ± 0,08	0,01 ± 0,002	0,073 ± 0,02	0,002 ± 0,0003	0,42 ± 0,03	0,006 ± 0,002	0,045 ± 0,01
G-	T0	Matrice	0,001 ± 0,0003	0,40 ± 0,02	0,01 ± 0,002	0,05 ± 0,01	0,001 ± 0,0004	0,35 ± 0,03	0,01 ± 0,002	0,04 ± 0,01
	T1	Matrice	0,002 ± 0,001	0,56 ± 0,05	0,01 ± 0,003	0,06 ± 0,01	0,002 ± 0,0002	0,43 ± 0,04	0,01 ± 0,001	0,05 ± 0,01
	T1	Rhizosphère	0,002 ± 0,001	0,59 ± 0,04	0,01 ± 0,003	0,07 ± 0,009	0,002 ± 0,0004	0,43 ± 0,04	0,008 ± 0,001	0,06 ± 0,02

a: G+ = Inoculé avec la mycorhize *Glomus irregulare* et G- = sans inoculation de la mycorhize

b: T0 = avant l'expérience et T1 = après l'expérience

c: C+ = sol contaminé et C- = sol non contaminé par des composés organiques

La Figure 4-1 permet d'abord de constater que pour le Cd il y a eu une tendance à l'augmentation des concentrations dans la matrice au T1 par rapport au sol T0. Dans les sols C+, les concentrations de Cd étaient plus élevées dans la matrice que la rhizosphère. Cela peut démontrer qu'un processus de solubilisation du Cd, soit un transfert de l'élément vers la phase biodisponible, s'est effectué dans les sols, et que cela s'est produit à une vitesse supérieure au transfert des ions solubles vers la rhizosphère.

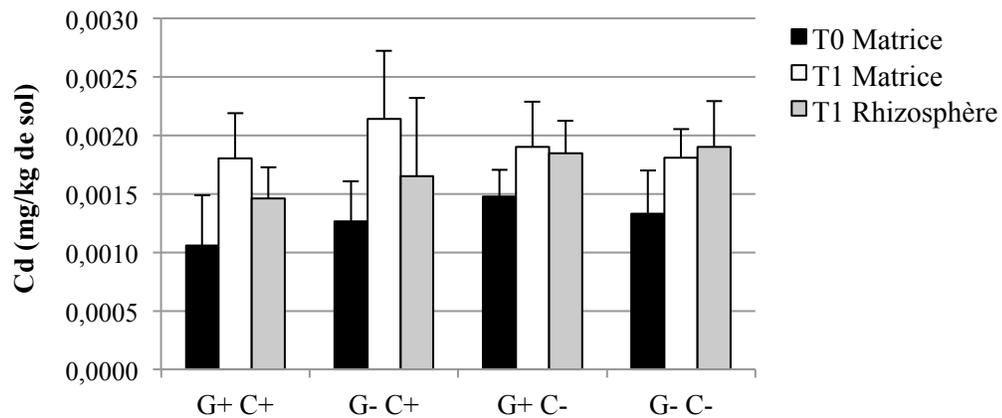


Figure 4-1: Concentrations moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'H₂O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Pour ce qui est des concentrations solubles de Cu (Figure 4-2), elles s'avéraient également plus élevées au T1 qu'au T0. Il s'est produit probablement dans ce cas aussi un processus de solubilisation de Cu induit par la plante. Les concentrations de la matrice et de la rhizosphère au T1 étaient assez équivalentes.

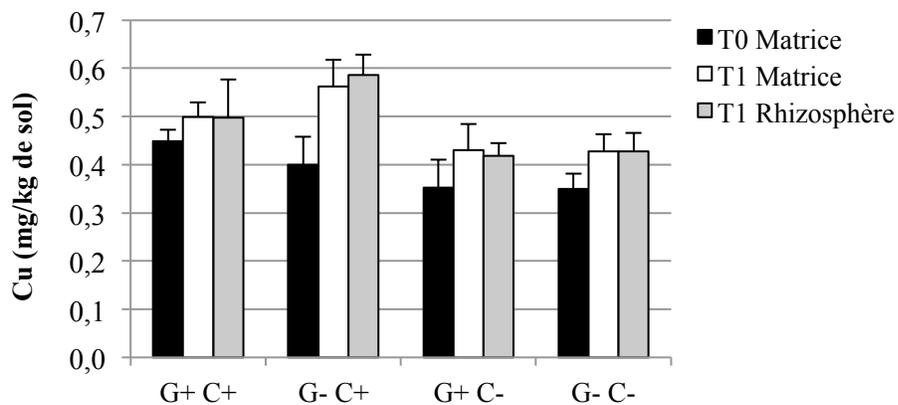


Figure 4-2: Concentrations moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'H₂O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Dans le cas du Pb (Figure 4-3), les concentrations solubles étaient également plus élevées dans la matrice au T1 par rapport au T0, mais seulement dans le cas des sols C+. Encore une fois dans les sols C+, les concentrations étaient moins élevées dans la rhizosphère que dans la matrice, phénomène aussi observé avec le Cd.

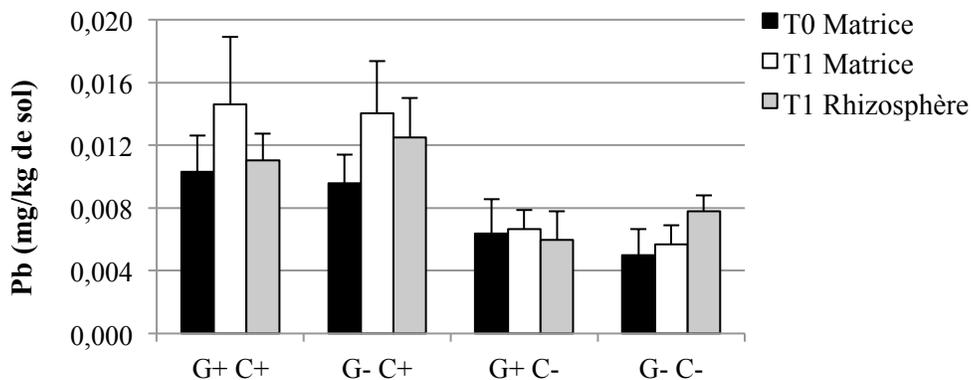


Figure 4-3: Concentrations moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'H₂O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Pour le Zn (Figure 4-4), il y avait peu de différences pour les concentrations solubles. Il y a tout de même une tendance à l'augmentation de celles-ci au T1 par rapport au T0, excepté pour les pots du traitement G+C-. Contrairement à la majorité des cas pour les autres éléments étudiés, les concentrations de Zn solubles s'avéraient plus élevées dans la rhizosphère que dans la matrice au T1. Il y aurait donc un transfert des ions solubles de la matrice à la rhizosphère, ou alors une solubilisation des ions de Zn, et ce, de façon plus rapide que l'absorption de l'élément par la plante.

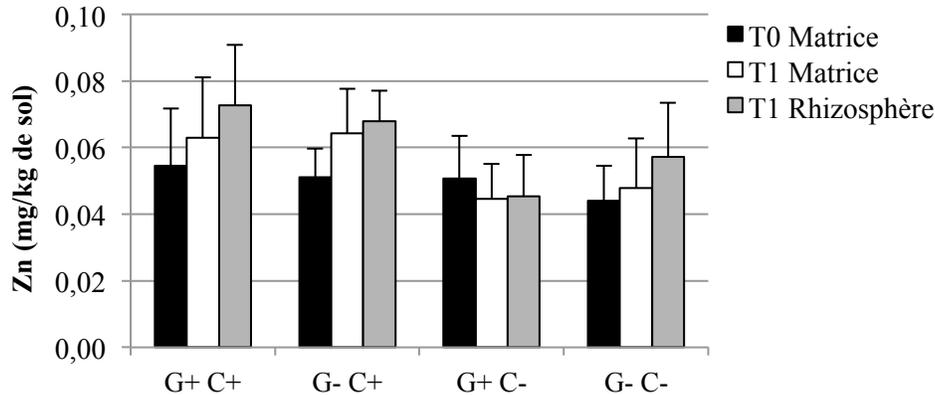


Figure 4-4: Concentrations moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'H₂O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

4.1.3.2 Quantités

Les contenus totaux en ET dans les pots sont obtenus en multipliant la concentration de l'élément par la masse de la matrice (Tableau 4-4). Cela permet d'obtenir une information complémentaire aux concentrations, afin de dresser un portrait plus global des sols. Les contenus totaux permettent ainsi de connaître la quantité d'éléments que contenaient les pots avant et après l'expérience.

On peut y voir à la Figure 4-5 que le Cd soluble a augmenté dans la matrice au T1 par rapport au T0. Les contenus dans la rhizosphère s'avéraient par contre négligeables.

Dans le cas des contenus totaux solubles de Cu également, les contenus étaient plus élevés dans la matrice de sol après l'expérience qu'avant (Figure 4-6). Ce processus était plus marqué pour les sols G-.

Pour ce qui est du Pb, c'est seulement avec les sols C+ qu'il y a eu une augmentation des quantités solubles entre T0 et la matrice à T1 (Figure 4-7). Il n'y avait effectivement pas de différence significative entre les deux temps de l'expérience pour les sols C-, et les quantités y étaient inférieures à celles des sols C+.

Dans le cas des contenus de Zn, pour les sols C+, on observe une augmentation des contenus dans la matrice au T1 par rapport au T0 (Figure 4-8). La tendance inverse semble

avoir eu lieu pour les sols G+ C-, et il y avait très peu de différence pour les sols G- C-.

Tableau 4-4: Quantités moyennes et écarts-types (n=6) en éléments traces solubles dans l'H₂O dans les sols au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1)

G ^a	T	Compartiment	Sol C+ ^b				Sol C-			
			Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
..... mg										
G+	T0	Matrice	0,01 ±0,005	4,88 ±0,45	0,11 ±0,025	0,59 ±0,17	0,02 ±0,002	3,70 ±0,64	0,07 ±0,02	0,53 ±0,14
	T1	Matrice	0,02 ±0,005	5,38 ±0,40	0,16 ±0,05	0,68 ±0,21	0,02 ±0,004	4,44 ±0,55	0,07 ±0,01	0,46 ±0,11
	T1	Rhizosphère	0,0002 ±0,0001	0,06 ±0,03	0,001 ±0,0007	0,009 ±0,004	0,0004 ±0,0001	0,09 ±0,02	0,001 ±0,0004	0,010 ±0,004
G-	T0	Matrice	0,01 ±0,004	4,25 ±0,59	0,10 ±0,03	0,55 ±0,11	0,01 ±0,004	3,90 ±0,31	0,06 ±0,02	0,49 ±0,11
	T1	Matrice	0,02 ±0,007	5,88 ±0,75	0,15 ±0,05	0,68 ±0,19	0,02 ±0,002	4,68 ±0,39	0,06 ±0,01	0,52 ±0,15
	T1	Rhizosphère	0,0002 ±0,0001	0,06 ±0,03	0,001 ±0,0007	0,007 ±0,004	0,0003 ±0,00006	0,07 ±0,02	0,001 ±0,0003	0,01 ±0,004

a: G+ = Inoculé avec la mycorhize *Glomus irregulare* et G- = sans inoculation de la mycorhize

b: C+ = sol contaminé et C- = sol non contaminé par des composés organiques

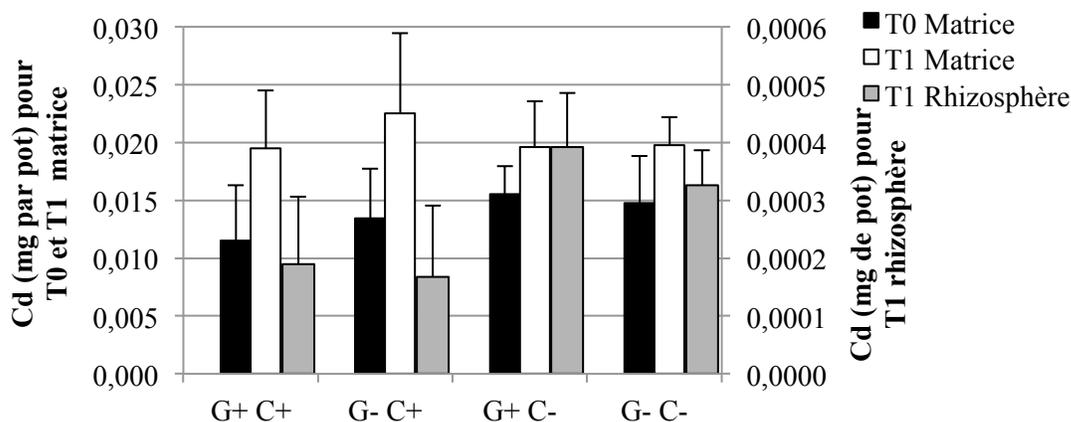


Figure 4-5: Quantités moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'H₂O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

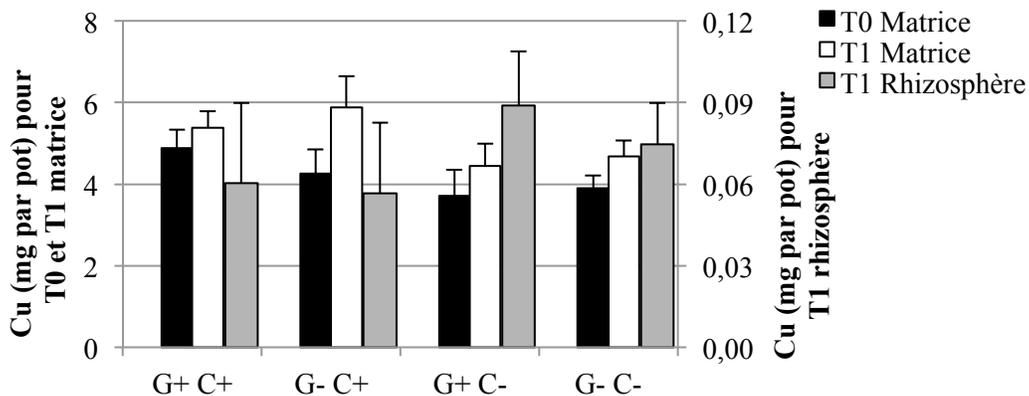


Figure 4-6: Quantités moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'H₂O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

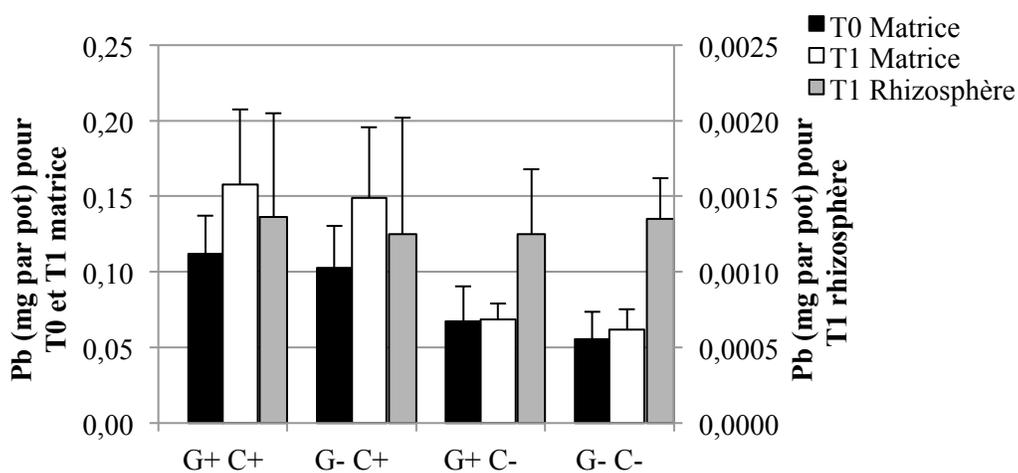


Figure 4-7: Quantités moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'H₂O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

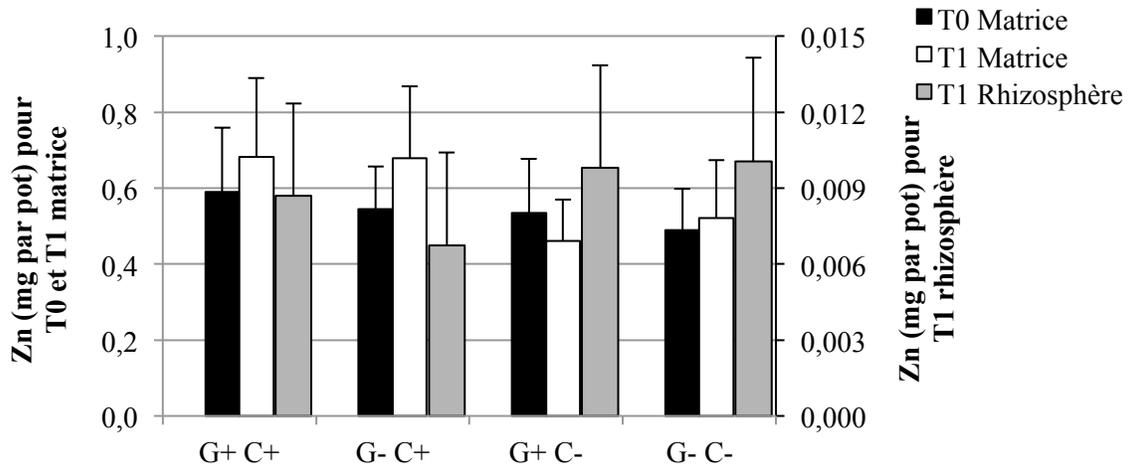


Figure 4-8: Quantités moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'H₂O dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

4.1.4 Éléments traces extraits à l'HNO₃ dans les sols

4.1.4.1 Concentrations

Les ET ont ensuite été mesurés par la méthode d'extraction à l'HNO₃, afin d'obtenir une estimation des concentrations et des quantités totales dans les sols (Tableau 4-5). Pour ce qui est d'abord des concentrations de Cd, on peut observer une baisse de celles-ci entre le T0 et le T1, que ce soit dans la matrice ou la rhizosphère (Figure 4-9). De plus, dans le cas des sols C+, les concentrations étaient plus élevées, à T1, dans la matrice que la rhizosphère. Cela s'observait aussi avec les concentrations dites solubles. C'est donc dans la rhizosphère que la diminution des concentrations semble la plus marquée. Au T0, les sols C- affichaient des concentrations totales plus faibles que dans les sols C+, alors que les concentrations biodisponibles s'avéraient similaires. Les résultats de l'ANOVA mesurant les différences entre les deux temps de l'expérience (T0 et T1), et les compartiments à T1 (matrice et rhizosphère) démontrent toutefois, dans le cas du Cd, qu'aucun de ces groupes de données ne présentait de différences significatives au seuil de probabilité de 0,05 (Tableau 4-6).

Tableau 4-5: Moyennes et écarts-types (n=6) des concentrations en éléments traces extraits à l'acide (HNO₃) dans les sols au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1)

G ^a	T	Compartiment	Sol C+ ^b				Sol C-			
			Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
..... mg/kg										
G+	T0	Matrice	1,19 ± 0,07	50,5 ± 3,55	14,8 ± 1,21	85,7 ± 3,52	0,95 ± 0,04	37,3 ± 1,67	11,7 ± 0,35	100,2 ± 4,64
	T1	Matrice	1,10 ± 0,04	46,1 ± 2,96	14,7 ± 0,48	83,3 ± 1,70	0,79 ± 0,05	33,9 ± 4,43	10,8 ± 0,84	100,7 ± 4,46
	T1	Rhizosphère	0,91 ± 0,04	33,5 ± 3,19	12,1 ± 0,35	66,1 ± 1,91	0,73 ± 0,05	24,5 ± 2,158	14,3 ± 2,75	78,1 ± 3,08
G-	T0	Matrice	1,22 ± 0,04	47,9 ± 3,05	14,8 ± 0,72	86,9 ± 3,78	0,90 ± 0,05	36,5 ± 2,99	11,2 ± 0,69	99,3 ± 4,03
	T1	Matrice	1,07 ± 0,11	45,2 ± 6,13	13,9 ± 1,51	87,8 ± 1,81	0,74 ± 0,05	30,1 ± 7,07	9,92 ± 1,03	91,6 ± 15,1
	T1	Rhizosphère	0,94 ± 0,06	38,3 ± 9,01	12,7 ± 1,19	70,5 ± 2,67	0,74 ± 0,09	25,8 ± 2,77	12,8 ± 1,96	83,3 ± 6,63

a: G+ = Inoculé avec la mycorhize *Glomus irregulare* et G- = sans inoculation de la mycorhize

b: C+ = sol contaminé et C- = sol non contaminé par des composés organiques

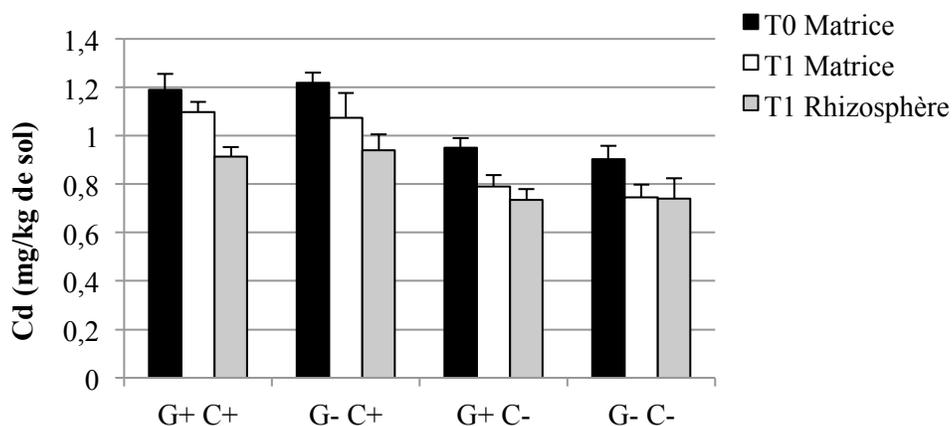


Figure 4-9: Concentrations moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'HNO₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Tableau 4-6 : Résultats d'ANOVA à deux facteurs pour évaluer la différence entre les concentrations d'éléments traces extraits à l'HNO₃ dans les sols avant et après l'expérience (facteur Temps), entre la rhizosphère et la matrice (facteur Compartiment), et l'interaction entre ces deux facteurs.

ET	Facteur	Signification
Cd	Temps	0,133
	Compartiment	0,122
	Interaction	0,113
Cu	Temps	0,300
	Compartiment	0,008*
	Interaction	0,005
Pb	Temps	0,398
	Compartiment	0,423
	Interaction	0,434
Zn	Temps	0,433
	Compartiment	0,001
	Interaction	0,001

* Les résultats en gras sont ceux significatifs au seuil de 0,05

Pour les concentrations de Cu, on observe également une baisse de celles-ci après l'expérience par rapport à T0 pour tous les traitements (Figure 4-10). De plus, à T1, elles étaient moins élevées dans la rhizosphère que dans la matrice. Les traitements avec mycorhizes présentaient des baisses plus importantes du Cu entre T0 et T1-rhizosphère que dans le cas des traitements G-. Cela peut présupposer d'un effet des mycorhizes assistant les plantes à accumuler le Cu. En comparant avec les valeurs biodisponibles, on peut observer que cette baisse (donc possiblement l'accumulation par la plante) était temporairement comblée par l'augmentation des concentrations solubles dans la rhizosphère. De plus, au T0, les sols C- présentaient des concentrations totales moins élevées que les sols C+. La situation était relativement semblable pour les concentrations biodisponibles. L'ANOVA évaluant les compartiments et les temps de l'expérience relève que seules les concentrations de la rhizosphère et de la matrice étaient statistiquement distinctes. Toutefois, l'interaction entre ces deux facteurs l'était aussi, ce qui diminue la puissance du résultat précédent.

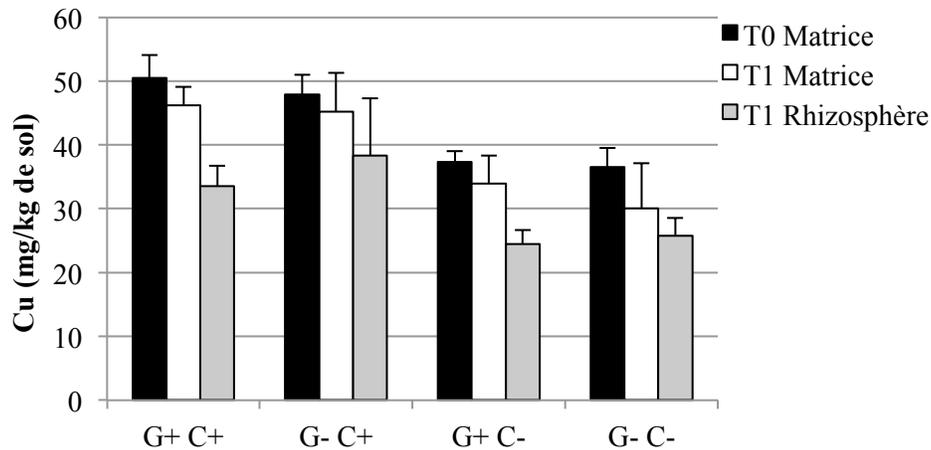


Figure 4-10: Concentrations moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'HNO₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Au T1, les concentrations de Pb avaient légèrement diminué dans la matrice par rapport au T0, sauf dans le cas de G+C+ (Figure 4-11). On remarque aussi une inversion des processus entre les sols C+ et C-; les concentrations de Pb ont diminué entre la matrice et la rhizosphère dans le cas des C+, alors qu'elles ont augmenté dans le cas de C-. Au T0, les sols C+ présentaient des concentrations plus élevées que les sols C-, et il y avait également davantage de concentrations biodisponibles, mais très légèrement. Comme pour le Cd, dans ce cas aussi l'ANOVA n'a révélé aucune distinction statistique entre les temps et les compartiments de l'expérience.

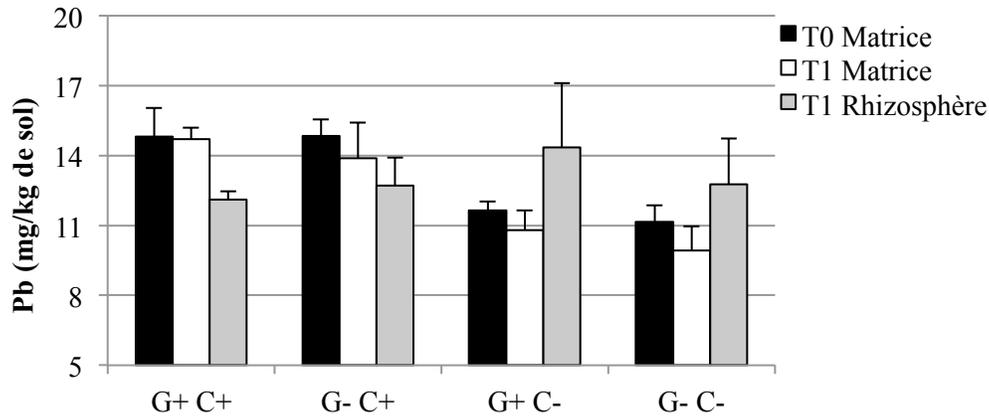


Figure 4-11: Concentrations moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'HNO₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Les concentrations de Zn étaient significativement plus basses, sauf dans le cas de G-C-, dans la rhizosphère que dans la matrice (Figure 4-12). Cela s'expliquerait sans doute par l'accumulation rapide du Zn par la plante suite à sa solubilisation. Par contre, l'effet de remédiation entre le T1 et le T0 semble peu observable pour les traitements G-C+ et G+C-. Au T0, les sols C- présentaient des concentrations plus élevées que les sols C+, alors qu'elles étaient relativement autant biodisponibles. L'ANOVA a mesuré que le cas du Zn s'apparente ici à celui du Cu; les compartiments matrice et rhizosphère présentaient des données significativement différentes, de même que l'interaction entre les deux variables (temps et compartiments).

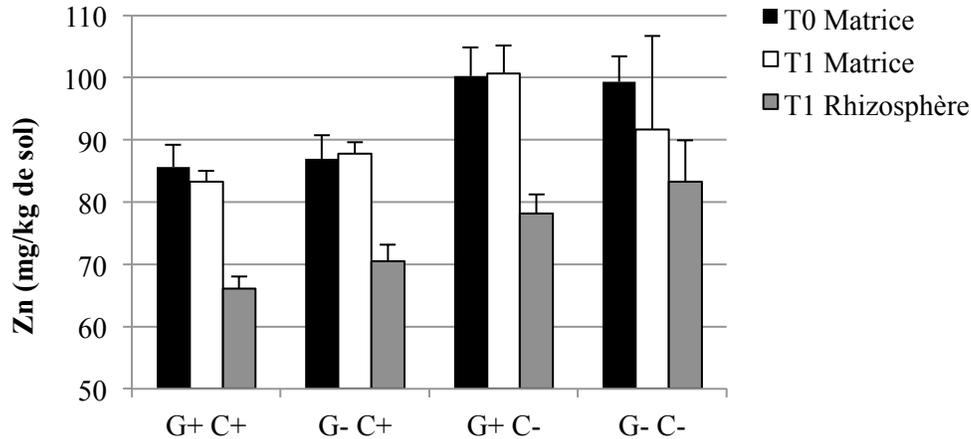


Figure 4-12: Concentrations moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'HNO₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

4.1.4.2 Quantités

Les contenus dits totaux en ET permettent d'évaluer si un effet de remédiation a réellement eu lieu au cours de l'expérience à l'aide des plants de saules et des mycorhizes (Tableau 4-7).

Pour ce qui est d'abord du Cd (Figure 4-13), il y a eu une tendance à la diminution des quantités de Cd dans la matrice après l'expérience. Une remédiation effective du Cd dans le sol serait donc observable. Les sols C-, qui présentaient des contaminations plus faibles, ont connus une baisse plus importante de leurs contenus.

Le cas du Cu se présente de façon similaire, c'est-à-dire qu'il y a eu une tendance à la baisse des quantités entre le T0 et le T1 (Figure 4-14). Une certaine remédiation du Cu est donc également présente. Les sols C+ contenaient originalement davantage de Cu que les sols C-, mais les changements après l'expérience ont été d'un ordre de grandeur semblable.

Tableau 4-7: Quantités moyennes et écart-type (n=6) en éléments traces extraits à l'acide (HNO₃) au début de l'expérience (T0) et à la récolte (T1)

G ^a	T	Compartiment	Sol C+ ^b				Sol C-			
			Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
mg										
G+	T0	Matrice	13,0 ±0,99	551 ±51,2	162 ±14,0	935 ±56,9	10,0 ±0,71	393 ±22,6	123 ±5,12	1053 ±41,9
	T1	Matrice	11,8 ±0,39	497 ±33,5	159 ±4,63	898 ±38,8	8,14 ±0,35	350 ±48,87	111 ±8,06	1037 ±60,0
	T1	Rhizosphère	0,12 ±0,07	4,25 ±2,46	1,56 ±0,96	8,48 ±5,08	0,16 ±0,005	5,28 ±1,66	1,92 ±0,54	16,8 ±4,7
G-	T0	Matrice	12,9 ±1,45	509 ±69,7	157 ±18,9	926 ±134	10,1 ±0,38	407 ±36,1	124 ±5,72	1107 ±57,8
	T1	Matrice	11,4 ±2,06	477 ±94,1	147 ±26,3	923 ±95,5	8,16 ±0,58	329 ±74,4	109 ±10,7	1003 ±158
	T1	Rhizosphère	0,09 ±0,03	3,55 ±1,06	1,20 ±0,40	6,81 ±2,91	0,13 ±0,03	4,55 ±1,17	1,64 ±0,33	14,6 ±3,28

a: G+ = Inoculé avec la mycorhize *Glomus irregulare* et G- = sans inoculation de la mycorhize

b: C+ = sol contaminé et C- = sol non contaminé par des composés organiques

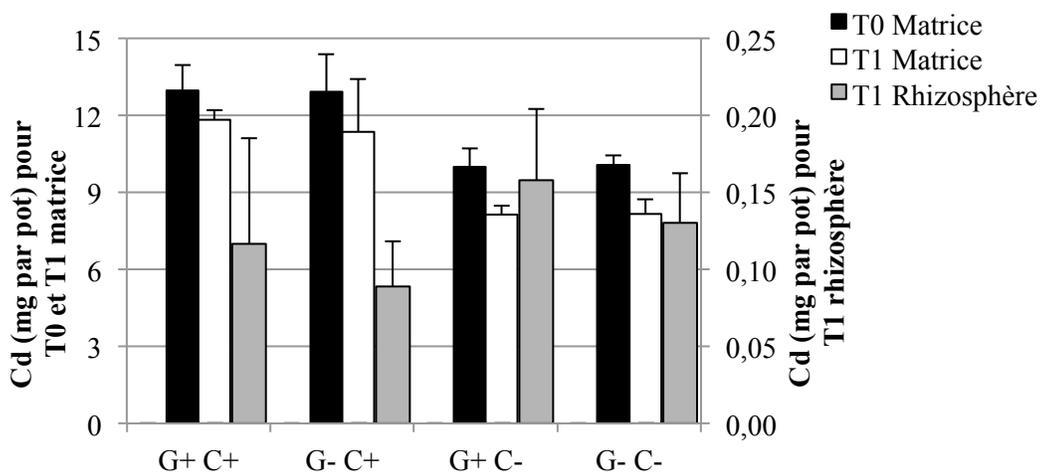


Figure 4-13: Quantités moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'HNO₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Comme pour le Cd et le Cu, le Pb total a diminué au T1 par rapport au T0 (Figure 4-15). Dans ce cas aussi, les contenus initiaux étaient plus élevés dans les pots C+, alors que les

différences entre T0 et T1 étaient plutôt semblables ; seuls les sols G+C+ affichaient un écart plus faible.

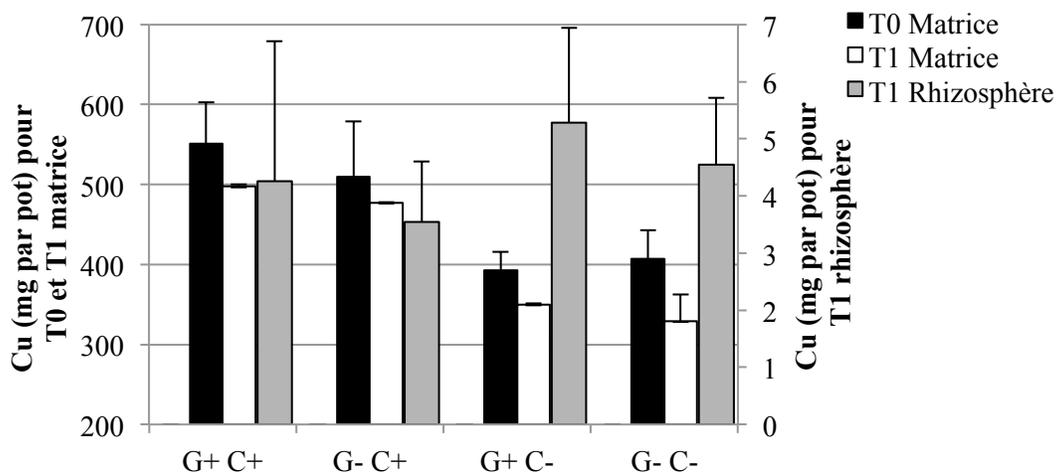


Figure 4-14: Quantités moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'HNO₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

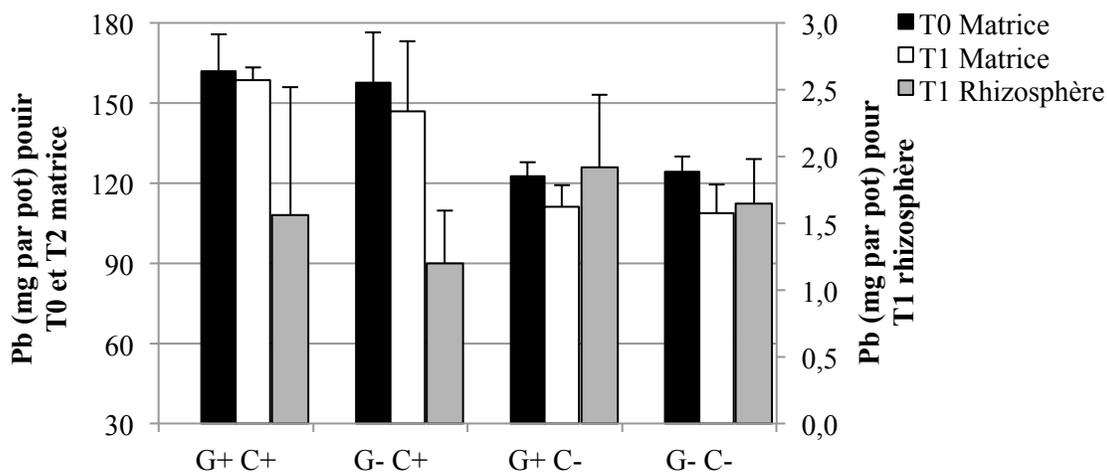


Figure 4-15: Quantités moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'HNO₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Finalement, pour le Zn, il y a eu une baisse significative des contenus dans la matrice au T1 par rapport au T0 pour 2 des traitements, soit G+ C+ et G- C- (Figure 4-16). Pour ce qui est des deux autres (G- C+ et G+ C-), les contenus étaient plutôt équivalents. Les contenus dans la rhizosphère étaient toutefois plus importants dans les sols C- que dans les sols C+, alors que les contenus solubles étaient tous semblables.

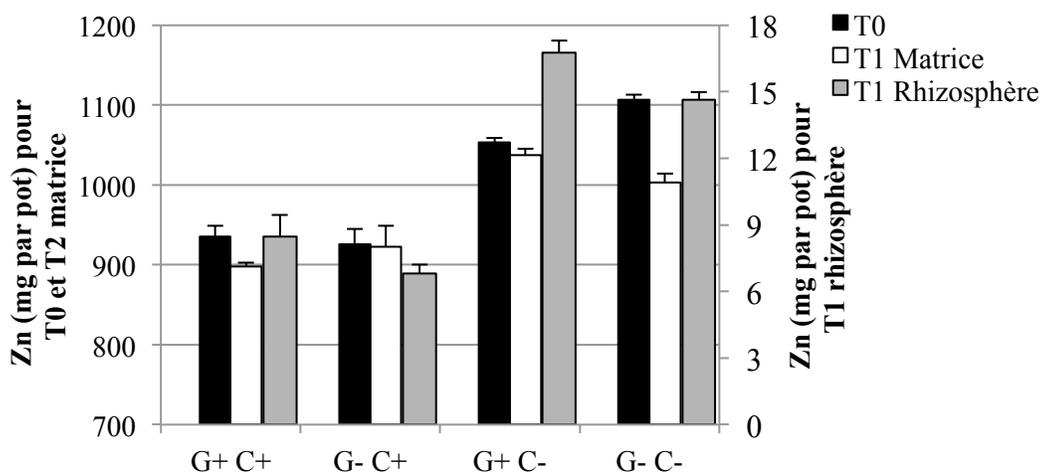


Figure 4-16: Quantités moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'HNO₃ dans les sols pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

4.1.5 Effet des mycorhizes (G+ vs G-)

Selon les résultats des ANOVA à deux facteurs avec permutations, la présence de mycorhizes n'a pas eu d'effet significatif dans le cas du Cd, que ce soit dans la rhizosphère ou la matrice (Tableau 4-8).

Pour le Cu, les ANOVA démontrent qu'il y a eu une distinction entre les traitements G+ et G- dans les sols de la rhizosphère ; les valeurs étant plus basses pour les sols qui ont été inoculés. Par contre, l'interaction entre les deux traitements y est également significative, ce qui signifie que la puissance de la différence statistique pour cette variable s'en trouve un peu affaiblie.

Tableau 4-8: Résultats^a d'ANOVA à deux facteurs pour évaluer l'effet de l'ajout de mycorhizes (G) et de la contamination organique du sol (C), et de leur interaction (G*C), sur les concentrations biodisponibles (H₂O) et totales (HNO₃) en ET dans la matrice et la rhizosphère du sol après l'expérience.

ET	Facteur	Extraction à l'H ₂ O		Extraction à l'HNO ₃	
		Matrice	Rhizosphère	Matrice	Rhizosphère
Cd	G				
	C			C+ > C-	C+ > C-
	G * C				
Cu	G		G+ < G-		
	C	C+ > C-	C+ > C-	C+ > C-	C+ > C-
	G * C		**		
Pb	G		G+ < G-		
	C	C+ > C-	C+ > C-	C+ > C-	
	G * C				
Zn	G				
	C	C+ > C-	C+ > C-	C+ < C-	C+ < C-
	G * C			**	

a Seuls les résultats significatifs au seuil de 0,05 sont présentés.

** Interaction significative au seuil de 0,05

Quant au Pb, les différences entre les traitements de mycorhize étaient, dans ce cas aussi, statistiquement distinctes, mais uniquement pour le compartiment rhizosphère, avec des concentrations encore une fois plus faibles pour le traitement G+.

Comme pour le Cd, dans le cas du Zn, les ANOVA démontrent qu'il n'y a pas eu de différence significative entre les traitements de mycorhizes.

Pour ce qui est des concentrations extraites à l'HNO₃, aucune des comparaisons ANOVA entre les jeux de données n'a démontré d'écart important par rapport à la présence de mycorhizes inoculées.

Le test MANOVA calculant l'effet des facteurs mycorhize et extraction (H₂O ou HNO₃) sur l'ensemble des données de concentrations d'ET dans les sols à T1 a produit un résultat non significatif dans le premier cas (signification de 0,784), alors qu'il était significatif dans le

deuxième cas (signification de 0,001), et que l'interaction entre les deux facteurs ne l'était pas (signification de 0,809).

4.1.6 Effet de la contamination organique (C+ vs C-)

4.1.6.1 Concentrations solubles

De la même manière que pour le facteur mycorhize, les concentrations ont été comparées en fonction du facteur contamination organique (Tableau 4-8). Pour les concentrations solubles d'abord, le traitement contamination n'a pas eu d'effet significatif dans le cas du Cd, que ce soit dans la rhizosphère ou la matrice. Pour ce qui est du Cu, les tests statistiques démontrent qu'il y a eu une différence significative entre les concentrations des deux types de contamination, et ce, autant dans la rhizosphère et dans la matrice. Les sols C+ contenaient des concentrations plus élevées que ceux C-. Quant aux différences pour le Pb, les résultats étaient identiques à ceux du Cu ; des concentrations plus élevées pour les sols C+, dans la rhizosphère comme dans la matrice. Les ANOVA pour les concentrations de Zn ont généré également le même schéma.

4.1.6.2. Concentrations totales

Les ANOVA pour les concentrations totales (Tableau 4-8) suggèrent d'abord que celles de Cd et de Cu étaient distinctement plus élevées dans les sols C+ que les sols C-, autant dans la rhizosphère que dans la matrice. Pour le Pb, cette même tendance ne se retrouve que dans la matrice de sol. Pour le Zn, le résultat est plutôt inversé ; les sols de la matrice et de la rhizosphère des sols C+ ont des concentrations significativement plus basses que dans le traitement C-. Dans le cas de la matrice, il y avait toutefois une interaction significative entre les traitements type de sol et présence de mycorhizes.

4.1.7 Décontamination totale

Les pourcentages de décontamination ont été calculés avec les données de quantités (à T1 et à T0), et dans ce cas, le calcul a été fait pour chacun des pots respectivement. Puis, des moyennes ont été calculées pour l'ensemble des pots et pour chaque traitement (Figure 4-17). Les pots contrôles, sans plante, ont été pris en considération, afin d'évaluer l'effet réel des plantes, et tenter d'écartier l'effet de possibles facteurs confondants. L'expérience en serre au sein d'espaces circonscrits permet d'obtenir ces données et d'estimer l'écart entre les quantités d'ET généré par l'étude, soit l'ampleur du processus de décontamination. Il s'avère par contre important de ne pas considérer ces taux de décontamination comme étant absolus, en raison de facteurs incontrôlables (perte de sol, distribution hétérogène des ET dans les sols, marge d'erreur des appareils de mesure, etc.).

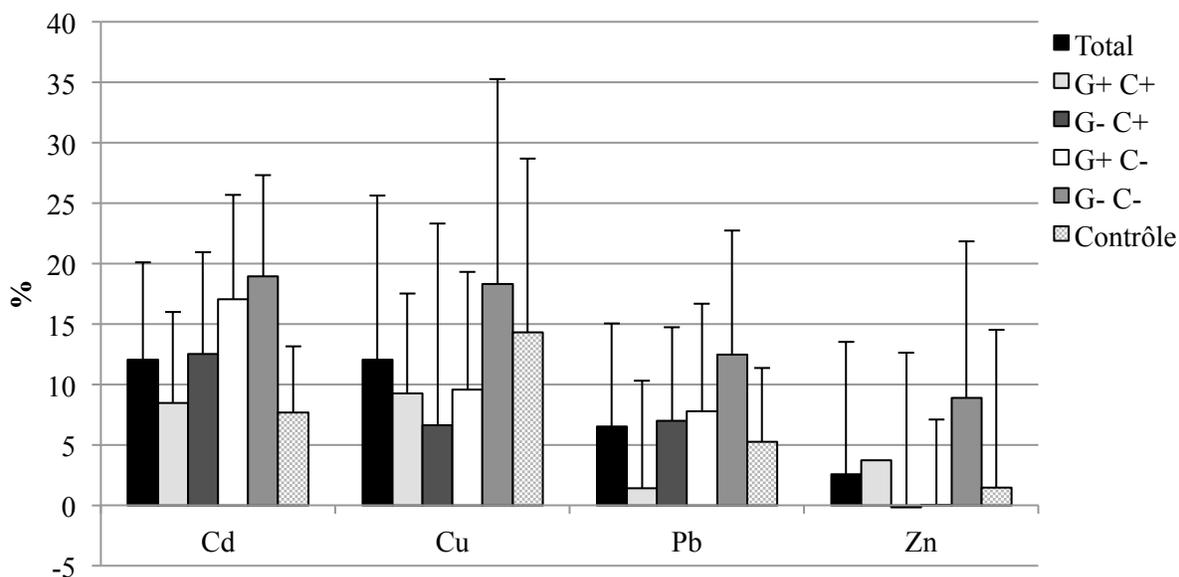


Figure 4-17: Pourcentages moyens et écarts-types du taux de décontamination en quantités d'éléments traces extraits à l'HNO₃ entre T0 et T1 pour le total des échantillons (n = (3 traitements * 6 pots) + (1 traitement * 5 pots) + 3 pots contrôles C+ et 3 pots contrôles C- = 29 pots), et pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).

On remarque d'abord que les variations au sein des traitements sont très importantes, et ce, pour tous les éléments. Cela rend l'effet des traitements plus difficilement percevable. Pour le Cd, il semble y avoir eu un réel effet de décontamination (supérieur aux pots contrôles). Au total, cela correspond à une différence d'environ 5 %, et pour chacun des traitements, les taux s'étendent approximativement entre 1 à 11 %. Le processus est un peu plus marqué pour les sols C- que ceux C+. Pour le Cu, l'effet de décontamination ne dépasse pas les pots contrôles, sauf pour G-C- (d'environ 4 %). Dans le cas du Pb, seul un traitement ne présente pas de taux de décontamination supérieur aux valeurs contrôles, G+C+. Au total, le taux est supérieur aux pots contrôles d'un peu plus de 1 %, et cela atteint 7,24 % pour le traitement G-C-. Pour ce qui est du Zn, la décontamination ajustée aux valeurs contrôles atteint également un peu plus de 1 %, et est supérieure également pour 2 des traitements ; G+C+ avec environ 2 % et G-C- avec près de 8%.

4.2 Les plantes

4.2.1 Biomasse produite

Les plants ont produit en moyenne 53,57 g de biomasse au total, et ont présenté de faibles variations entre les traitements (Tableau 4-9). La fraction la plus considérable de la biomasse produite se concentrait dans les tiges, alors que les feuilles et les racines présentaient des données du même ordre de grandeur (Figure 4-18). Dans le compartiment des tiges, les plantes G+ ont démontré une tendance à une production supérieure aux plantes G-. L'ANOVA déséquilibrée à permutations calculant l'effet des facteurs mycorhizes (signification de 0,605) et contamination (signification de 0,119) a toutefois montré qu'après une saison de croissance, aucun d'entre eux n'a eu d'impact sur la production de biomasse, ni l'interaction entre les deux facteurs (signification de 0,650).

Tableau 4-9: Biomasses totales moyennes et écarts-types des plants à T1 selon les traitements (n=6, sauf n=5 pour G+ C-)

Traitement	Biomasse moyenne (g)	% aérien ^a	% souterrain ^b
Total	53,71 ± 10,10	86,28 ± 1,68	13,72 ± 1,68
G+ C+	57,25 ± 12,54	87,32 ± 2,95	12,68 ± 2,95
G- C+	52,34 ± 11,87	87,97 ± 3,41	12,03 ± 3,41
G+ C-	56,98 ± 6,19	85,55 ± 2,38	14,45 ± 2,38
G- C-	48,27 ± 7,54	84,28 ± 3,88	15,72 ± 3,88

a : Le pourcentage aérien comprend les tiges et les feuilles, sur le total de la biomasse.

b: Le pourcentage souterrain correspond aux racines, sur le total de la biomasse.

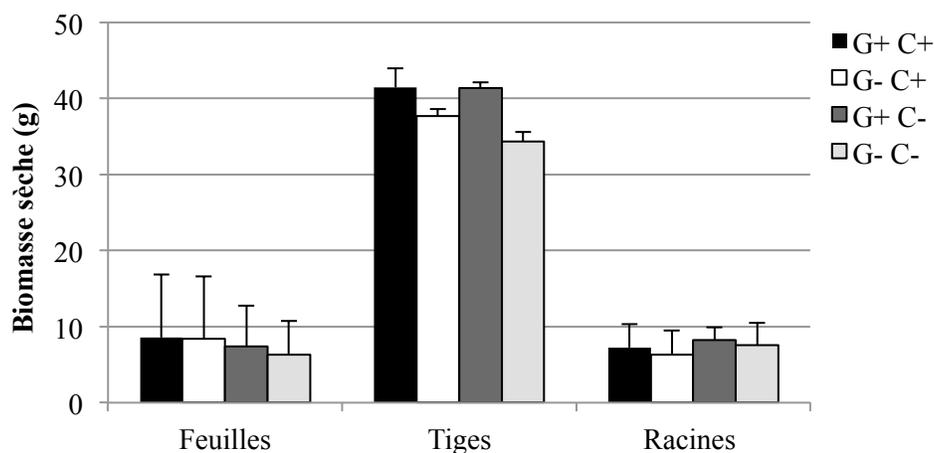


Figure 4-18: Biomasses moyennes et écarts-types des parties des plantes pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

4.2.2 Concentrations d'éléments traces extraits à l'HNO₃ dans les plantes

Les concentrations accumulées par chaque partie des plantes (racines, tiges, feuilles) ont été extraites par la méthode à l'HNO₃ (Tableau 4-10). Tout d'abord, les concentrations de Cd ont tendu à s'accumuler dans les feuilles, puis de façon moins importante dans les racines et

les tiges (Figure 4-19). Celles-ci ont présenté des valeurs équivalentes. Les plantes du traitement G+C- présentaient des accumulations légèrement plus élevées que dans les autres sections de l'expérience. Toutes les valeurs dépassaient le critère A du MDDELCC pour la matière sèche, soit 1,5 mg/kg, et la majorité des concentrations des feuilles atteignaient le critère B de 5 mg/kg. Cette biomasse est donc à traiter comme matière contaminée. Le FCB du Cd atteint une valeur plutôt élevée de 5,20 en moyenne (Tableau 4-11). En mesurant ce facteur spécifiquement avec les feuilles, il atteint en moyenne 8,45, et même 12,74 au maximum (avec le traitement G+C-). Le ratio A/S du Cd est de 1,77 en moyenne, et la variation entre les traitements est plutôt faible.

Tableau 4-10: Moyennes et écarts-types (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-) des concentrations en ET extraits à l'acide (HNO₃) dans les plantes après l'expérience

G ^a	Compartiment	Sol C ^{+b}				Sol C-			
		Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
..... mg/kg									
G+	Feuilles	5,91 ± 1,98	16,1 ± 5,25	1,63 ± 1,79	324 ± 64,4	10,1 ± 5,00	16,1 ± 8,52	1,73 ± 0,86	410 ± 132
	Tiges	2,77 ± 0,94	6,37 ± 0,63	0,53 ± 0,34	62,1 ± 3,56	4,12 ± 1,55	5,32 ± 0,51	0,38 ± 0,23	66,4 ± 4,88
	Racines	2,82 ± 0,92	19,50 ± 2,89	3,50 ± 0,44	68,92 ± 8,40	3,49 ± 0,63	11,74 ± 0,72	1,87 ± 0,48	60,60 ± 4,20
G-	Feuilles	6,69 ± 2,93	14,5 ± 2,77	1,17 ± 0,31	334 ± 97,4	7,01 ± 1,11	14,9 ± 1,86	2,05 ± 1,81	352 ± 170
	Tiges	3,18 ± 1,32	6,71 ± 0,59	0,44 ± 0,37	66,3 ± 13,0	3,31 ± 0,73	4,91 ± 0,50	0,52 ± 0,33	54,1 ± 9,92
	Racines	2,80 ± 1,06	22,83 ± 4,10	3,80 ± 1,21	63,01 ± 9,31	2,90 ± 0,55	10,72 ± 1,47	3,15 ± 2,52	54,03 ± 5,31

a: G+ = Inoculé avec la mycorhize *Glomus irregulare* et G- = sans inoculation de la mycorhize

b: C+ = sols contaminés aux composés organiques et C- = sols non contaminés

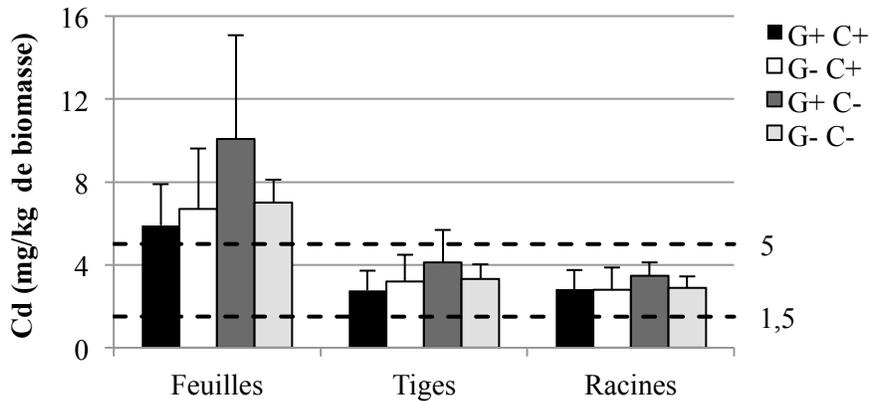


Figure 4-19: Concentrations moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'HNO₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-). Les lignes horizontales à 1,5 et 5 mg/kg représentent respectivement les critères A et B du MDDELCC (MDDELCC, 2015).

L'accumulation des concentrations totales de Cu dans les plantes s'est déroulée selon un même ordre de grandeur dans les racines et dans les feuilles (Figure 4-20). Les tiges représentent le compartiment ayant stocké le moins de Cu à la fin de l'expérience. Aucune valeur de concentration ne dépassait le critère A du MDDELCC de 40 mg/kg. Alors que les feuilles et les tiges ne présentaient pas de différences importantes en fonction des traitements, les sols C+ avaient des accumulations plus élevées que les sols C- dans le compartiment des racines. Le FCB est sous la barre du 1 dans tous les cas, pour la plante complète (0,33 en moyenne) de même que pour les feuilles (moyenne de 0,42) (Tableau 4-11). Les différents traitements ne présentent pas d'importantes variations à ce niveau. Le ratio A/S moyen est de 0,72, et il y a eu davantage de transfert vers les parties aériennes dans le cas des sols C- que pour les sols C+.

Tableau 4-11: Facteurs de bioconcentration (FCB) pour l'ensemble du plant et pour les feuilles, et ratio des concentrations des parties aériennes sur les parties souterraines (Ratio A/S)

ET	Traitement	FCB - plant	FCB - feuilles	Ratio A/S
Cd	Total	5,20*	8,45	1,77
	G+C+	3,47	5,35	1,56
	G-C+	3,93	6,23	1,75
	G+C-	7,44	12,74	1,99
	G-C-	5,97	9,49	1,81
Cu	Total	0,33	0,42	0,72
	G+C+	0,31	0,36	0,59
	G-C+	0,33	0,33	0,47
	G+C-	0,33	0,48	0,91
	G-C-	0,35	0,52	0,95
Pb	Total	0,15	0,14	0,45
	G+C+	0,13	0,11	0,32
	G-C+	0,13	0,08	0,25
	G+C-	0,12	0,16	0,61
	G-C-	0,20	0,22	0,66
Zn	Total	1,78	3,93	3,42
	G+C+	1,82	3,89	2,84
	G-C+	1,76	3,81	3,15
	G+C-	1,77	4,05	3,94
	G-C-	1,77	4,01	3,84

* Les valeurs en gras sont celles supérieures à 1.

Le cas du Pb (Figure 4-21) s'apparente à celui du Cu: les concentrations totales ont eu tendance à s'accumuler surtout dans les racines et les feuilles. Dans ce cas-ci, les racines présentaient toutefois des valeurs légèrement supérieures à celles des feuilles. Pour leur part, les tiges présentaient le lieu d'accumulation le plus faible. Les écarts-types élevés traduisent par contre des variations assez importantes entre les valeurs d'un même traitement. Aucune des concentrations mesurées ne dépassait dans ce cas non plus le critère A du MDDELCC, soit 50 mg/kg. Les deux facteurs de l'étude n'ont pas créé de différences marquées entre ces valeurs, seul le traitement G+C- présentait des concentrations plus faibles dans le compartiment des racines. Comme pour le Cu, les FCB (Tableau 4-11) ne dépassent pas le seuil de 1, pour une valeur moyenne de 0,15. Le Pb est le seul élément dont les FCB des

feuilles ne dépassent que faiblement, ou pas du tout pour G-C+, les FCB pour la plante en entier. Finalement, le ratio A/S moyen est de 0,45, il s'agit aussi du plus faible de l'expérience. Ce ratio s'avère un peu supérieur pour les sols C- par rapport à ceux des sols C+.

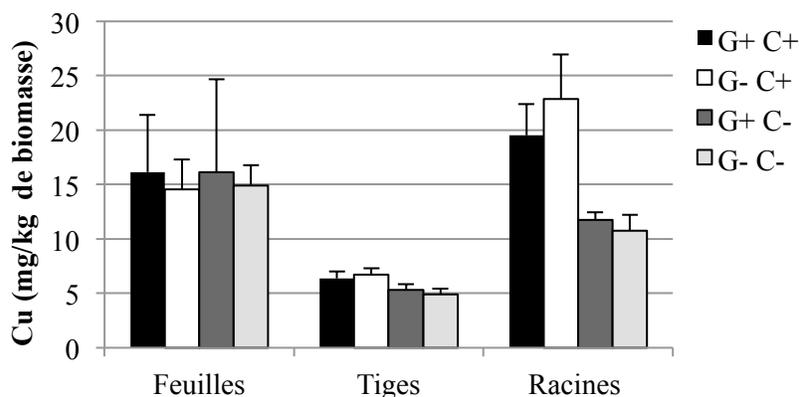


Figure 4-20 : Concentrations moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'HNO₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).

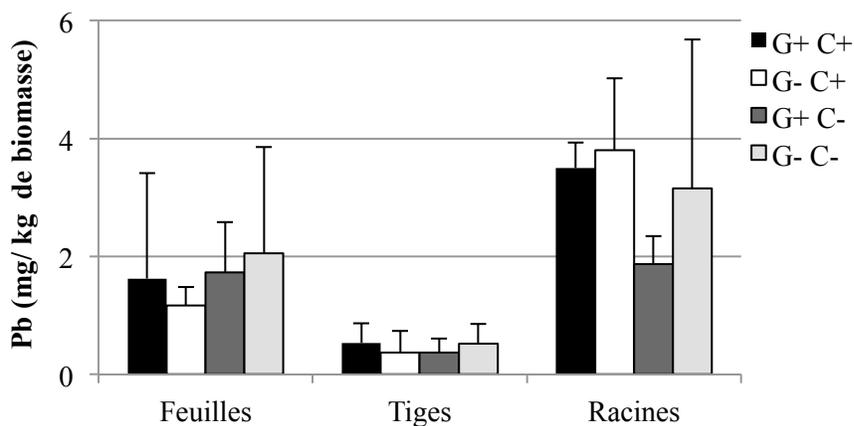


Figure 4-21: Concentrations moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'HNO₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-).

Le patron d'accumulation du Zn par les plantes (Figure 4-22) ressemble à celui du Cd, mais les compartiments s'y démarquent d'autant plus. La majorité des concentrations se retrouvaient dans les feuilles. Puis, les racines et les tiges ont accumulé des valeurs semblables

et considérablement plus faibles. L'ensemble des valeurs des feuilles était supérieur au critère A de 110 mg/kg du MDDELCC, et certaines atteignaient même la barre du 500 mg/kg, correspondant au critère B. Les traitements de l'expérience ne permettaient pas dans ce cas de différencier les concentrations obtenues. Les FCB du Zn (Tableau 4-11) se rapprochent des patrons de ceux du Cd. Ils sont donc tous supérieurs à 1, avec une moyenne 1,78 pour l'ensemble de la plante, et il y a peu de différence entre les traitements. Les FCB des feuilles y sont également plus élevés, avec une moyenne de 3,93. Pour ce qui est des ratios A/S, ils s'apparentent aussi à ceux du Cd, mais ce sont les plus élevés de l'expérience, avec une moyenne de 3,42, et où ceux des sols C- s'avèrent un peu plus élevés.

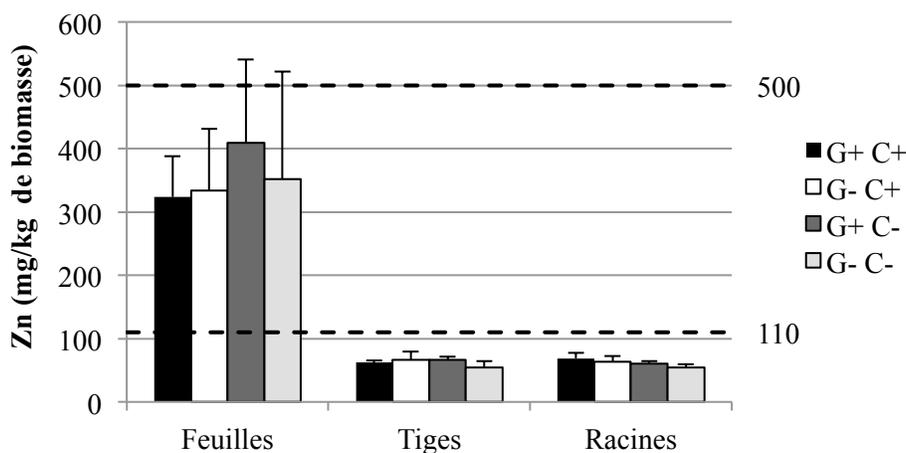


Figure 4-22: Concentrations moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'HNO₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-). Les lignes horizontales à 110 et 500 mg/kg représentent respectivement les critères A et B du MDDELCC (MDDELCC, 2015).

Les concentrations d'ET extraits à l'HNO₃ dans les plantes décroissent différemment selon l'ET ; il s'agit de feuilles > racines > tiges pour le Cd et le Zn, et de racines > feuilles > tiges pour le Cu et le Pb. Néanmoins, l'analyse multivariée linéaire discriminante (LDA) utilisée pour évaluer le classement des concentrations selon ces parties des plantes montre que ces compartiments présentent des contrastes significatifs (Figure 4-23). La LDA a été effectuée en considérant les parties des plantes comme classement initial des concentrations, et

n'a donc pas nécessité la génération d'une équation permettant de grouper ces variables explicatives. Des transformations logarithmiques ont toutefois été effectuées sur les valeurs de concentrations, car les variances entre les groupes n'étaient pas homogènes (testées par la fonction *betadisper*, puis par une méthode non paramétrique par permutations analogue à l'ANOVA). Une reclassification de validation croisée a posteriori indique que 91%, 91% et 100% des observations des feuilles, racines et tiges respectivement, étaient reclassifiées avec succès par la fonction discriminante calculée, témoignant ainsi de sa puissance. L'axe discriminant 1 permet d'expliquer 64 % de la variance, alors qu'il s'agit de 36 % pour l'axe discriminant 2. Les variables explicatives (encart de la Figure 4-23) ne se démarquent toutefois pas beaucoup. L'axe 1, défini en partie par le Zn et le Pb, permet surtout de contraster les tiges et les feuilles. L'axe 2 distingue pour sa part les racines des tiges et des feuilles, et est corrélé au Cd, au Cu et aussi au Zn. Il est tout de même possible de déduire que les plantes ont accumulé les ET selon des patrons précis, qui varient selon l'ET en question.

Des ANOVAS déséquilibrées à deux facteurs ont été effectuées sur l'ensemble des données de concentration des ET dans les plantes, afin de calculer si les facteurs sol et mycorhize ont engendré des résultats statistiquement différents (avec une probabilité de 0,05) (Tableau 4-12). Le facteur contamination a eu un tel résultat dans le cas du Cd et du Cu. Pour le Cd, les sols C- présentaient en effet des valeurs plus élevées, alors que c'était la situation inverse pour le Cu, en partie en raison des fortes concentrations racinaires des sols C+.

Dans le cas du facteur mycorhize, aucun résultat d'ANOVA n'a présenté de différences significatives entre les accumulations d'ET (Tableau 4-12). Par ailleurs, aucune interaction entre les deux facteurs ne s'est avérée significative.

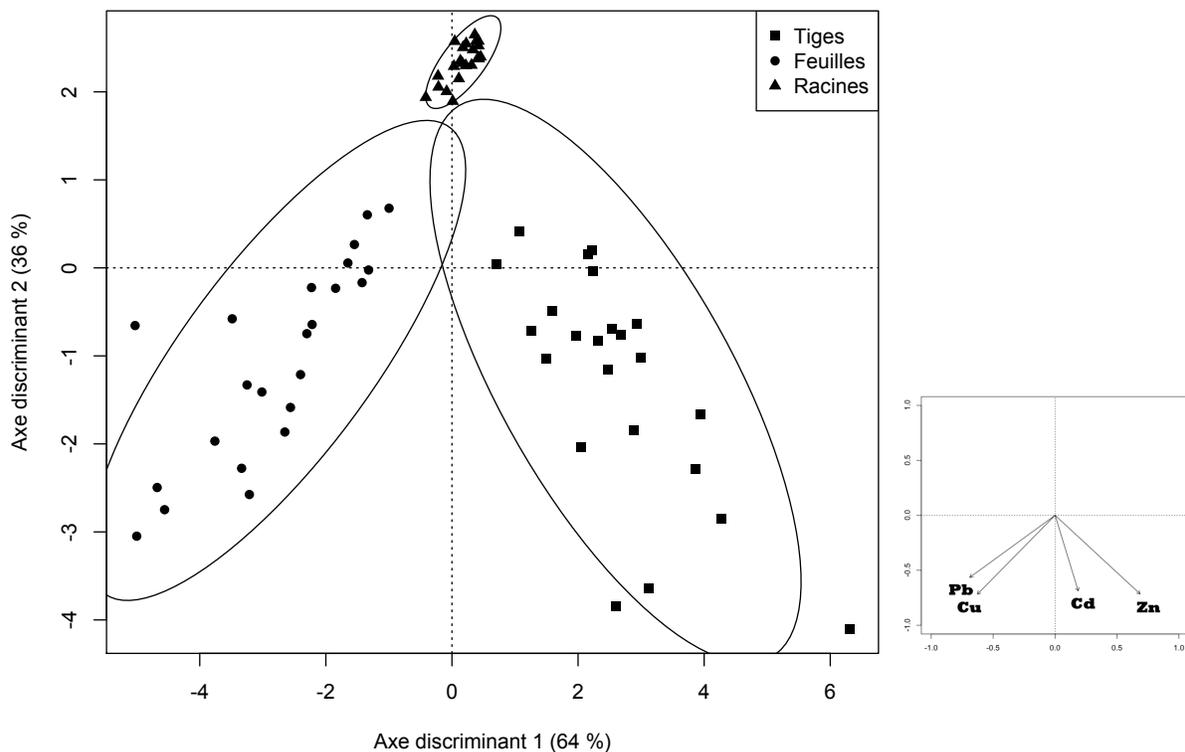


Figure 4-23: Distribution des observations résultant de l'analyse discriminante linéaire (LDA) effectuée sur les concentrations d'ET (Cd, Cu, Pb et Zn) extraits à l'HNO₃ dans les différents compartiments des plantes à T1. Les ellipses représentent la région de probabilité au seuil de 95 %. L'encart présente la corrélation entre les variables utilisées.

Une analyse multivariée de type MANOVA (avec un seuil de probabilité de 0,05) a aussi été effectuée afin de mesurer l'effet des facteurs mycorhize et contamination, mais cette fois sur l'ensemble des données de concentration dans les plantes. L'interaction entre ces facteurs n'a d'abord pas été calculée comme étant significative (signification de 0,693). Puis, les deux traitements de l'expérience n'ont pas non plus généré de différences significatives entre les concentrations dans leur ensemble (Cd, Cu, Pb et Zn) (signification de 0,76 pour le facteur mycorhize, et de 0,717 pour le facteur contamination).

Tableau 4-12: Résultats d'ANOVA à deux facteurs pour évaluer la différence entre les facteurs contamination (C) et mycorhize (G), et leur interaction sur l'ensemble des concentrations des éléments traces dans les plantes

ET	Facteur	Résultat
Cd	C	0,044*
	G	0,313
	Interaction	0,115
Cu	C	0,001
	G	0,960
	Interaction	0,484
Pb	C	0,275
	G	0,406
	Interaction	0,383
Zn	C	0,780
	G	0,766
	Interaction	0,739

* Les résultats en gras sont ceux significatifs au seuil de 0,05

4.2.3 Quantités totales d'éléments traces dans les plantes

Les calculs de quantités d'ET (Tableau 4-13) permettent d'obtenir une vision d'ensemble du processus de phytoextraction, car les biomasses produites y sont prises en compte. Les quantités de Cd se sont retrouvées majoritairement dans les tiges, puis de façon moindre dans les feuilles, et puis plus faiblement dans les racines (Figure 4-24). L'effet de la biomasse a donc fait basculer les tiges comme lieu d'accumulation principal, alors les feuilles détenaient des concentrations plus importantes. Le résultat est tout de même qu'en moyenne la majeure partie de la masse du Cd accumulé s'est retrouvé dans les parties aériennes (Figure 4-25). Il n'y a pas de tendance qui se démarque quant aux quantités entre les traitements. En moyenne, 0,210 mg de Cd a été accumulé au total par les plantes (total des racines, tiges et feuilles), pour des valeurs entre 0,179 et 0,271 mg par traitement.

Tableau 4-13: Moyennes et écarts-types (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-) des quantités en éléments traces extraits à l'acide (HNO₃) dans les plantes après l'expérience

G ^a	Compartiment	Sol C+ ^b				Sol C-			
		Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
.....mg.....									
G+	Feuilles	0,05 ± 0,02	0,15 ± 0,09	0,02 ± 0,02	2,84 ± 1,29	0,07 ± 0,03	0,12 ± 0,07	0,01 ± 0,007	3,00 ± 0,96
	Tiges	0,11 ± 0,03	0,26 ± 0,04	0,02 ± 0,02	2,58 ± 0,56	0,17 ± 0,06	0,22 ± 0,02	0,02 ± 0,01	2,74 ± 0,34
	Racines	0,005 ± 0,003	0,03 ± 0,009	0,007 ± 0,004	0,12 ± 0,07	0,006 ± 0,003	0,02 ± 0,005	0,004 ± 0,0008	0,10 ± 0,04
G-	Feuilles	0,06 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,01 ± 0,004	2,82 ± 0,93	0,04 ± 0,01	0,095 ± 0,03	0,01 ± 0,01	2,17 ± 0,49
	Tiges	0,13 ± 0,08	0,25 ± 0,06	0,02 ± 0,02	2,57 ± 1,02	0,11 ± 0,03	0,17 ± 0,03	0,02 ± 0,01	2,26 ± 1,34
	Racines	0,005 ± 0,004	0,03 ± 0,01	0,005 ± 0,003	0,09 ± 0,06	0,005 ± 0,002	0,01 ± 0,003	0,01 ± 0,001	0,08 ± 0,02

a: G+ = Inoculé avec la mycorhize *Glomus irregulare* et G- = sans inoculation de la mycorhize

b: C+ = sols contaminés aux composés organiques et C- = sols non contaminés

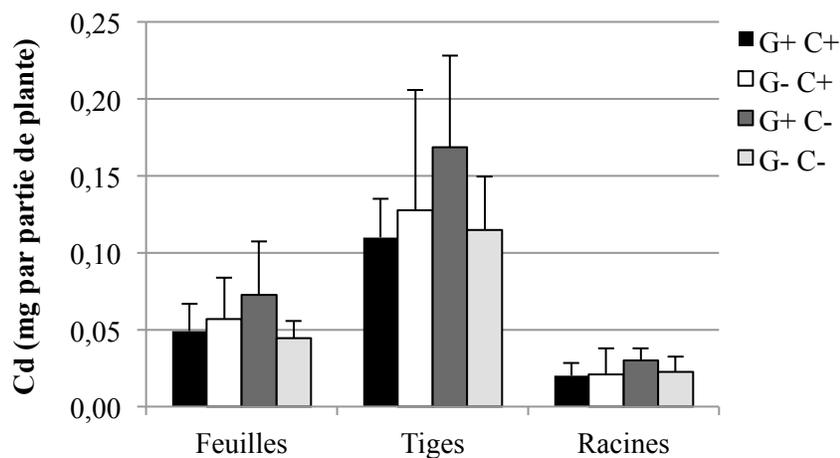


Figure 4-24: Quantités totales moyennes et écarts-types de Cd extrait à l'HNO₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

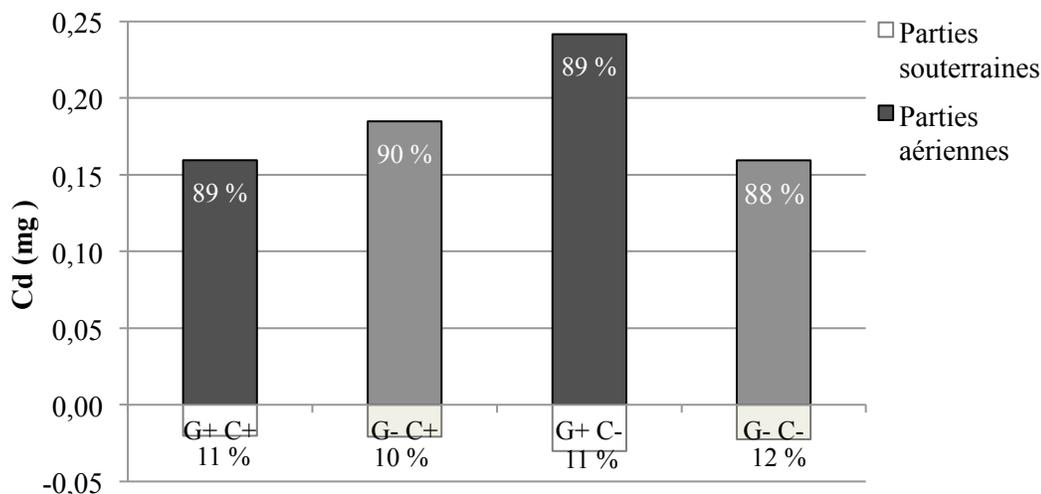


Figure 4-25: Partition entre les composantes aériennes et souterraines des plantes de la quantité totale moyenne de Cd extrait à l'HNO₃ des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Alors que les concentrations de Cu se trouvaient fortement accumulées dans les racines et les feuilles des plantes, les tiges arrivaient en tête dans ce cas aussi en ce qui concerne les quantités totales (Figure 4-26). Puis, les racines et les feuilles présentaient des quantités plutôt comparables. Une tendance à des quantités plus élevées dans les sols C+ était visible surtout pour les tiges et les racines, sans toutefois être très marquée. Les parties aériennes ont également accumulé la plus grande proportion de Cu (Figure 4-27), mais plus modérément que pour le Cd. Au total, une moyenne de 0,472 mg de Cu a été emmagasiné dans leurs parties aériennes et souterraines, et les sols C+ présentaient des quantités légèrement plus importantes.

Les quantités de Pb dans les parties des plantes présentaient d'importantes variations (Figure 4-28). Alors que les concentrations étaient plus élevées dans les racines, les quantités se retrouvaient de façon plutôt comparable dans les trois compartiments. On n'y décelait pas non plus de tendance évidente entre les traitements. Les quantités y étaient réparties plus également entre les parties aériennes et souterraines que pour le Cd et le Cu (Figure 4-29). Les quantités totales accumulées s'étendaient de 0,043 à 0,062 mg, avec une moyenne de 0,051 mg.

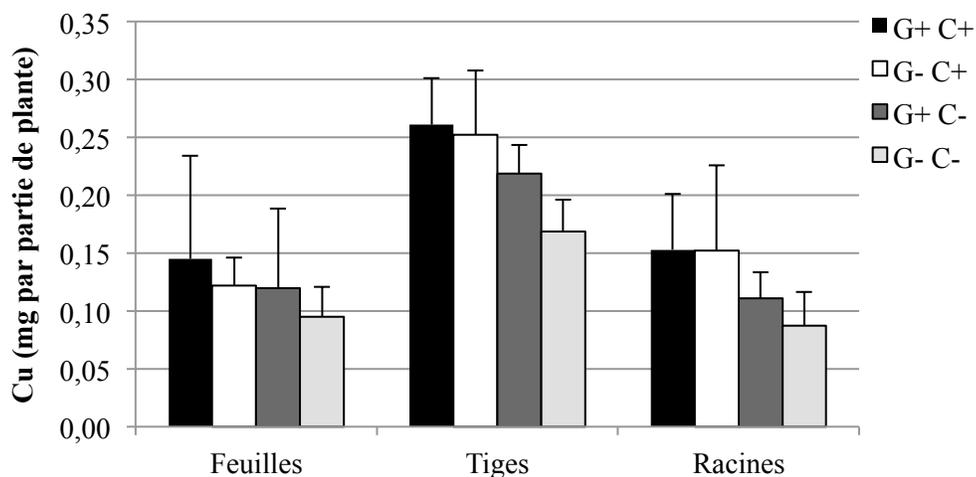


Figure 4-26: Quantités totales moyennes et écarts-types de Cu extrait à l'HNO₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

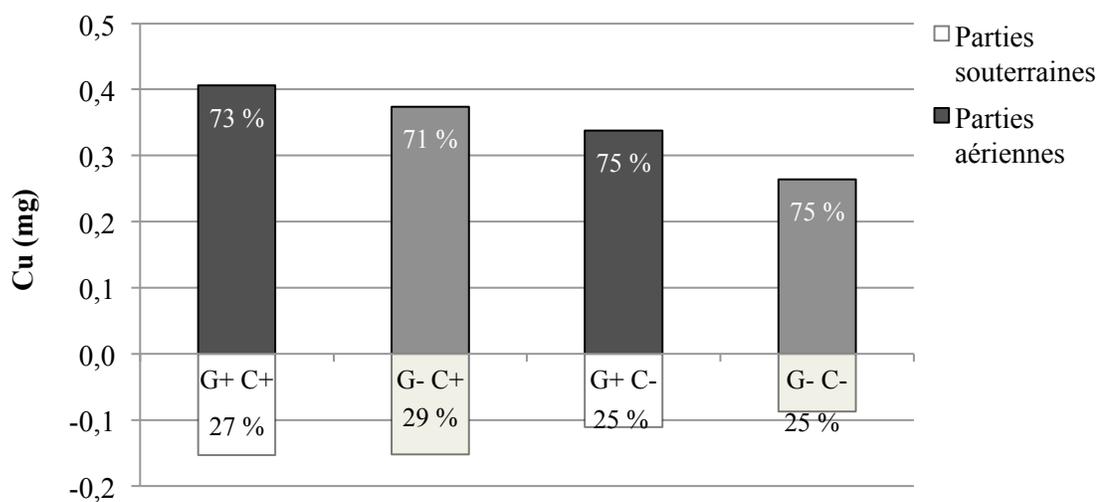


Figure 4-27: Partition entre les composantes aériennes et souterraines des plantes de la quantité totale moyenne de Cu extrait à l'HNO₃ des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

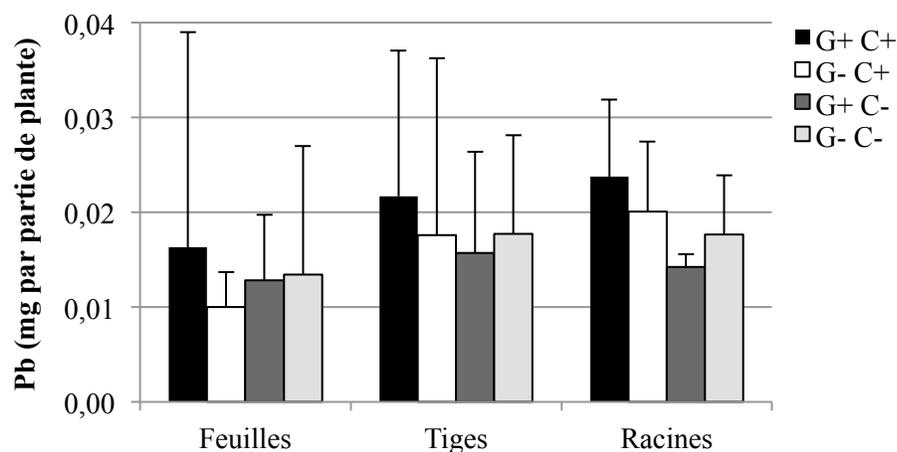


Figure 4-28: Quantités totales moyennes et écarts-types de Pb extrait à l'HNO₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

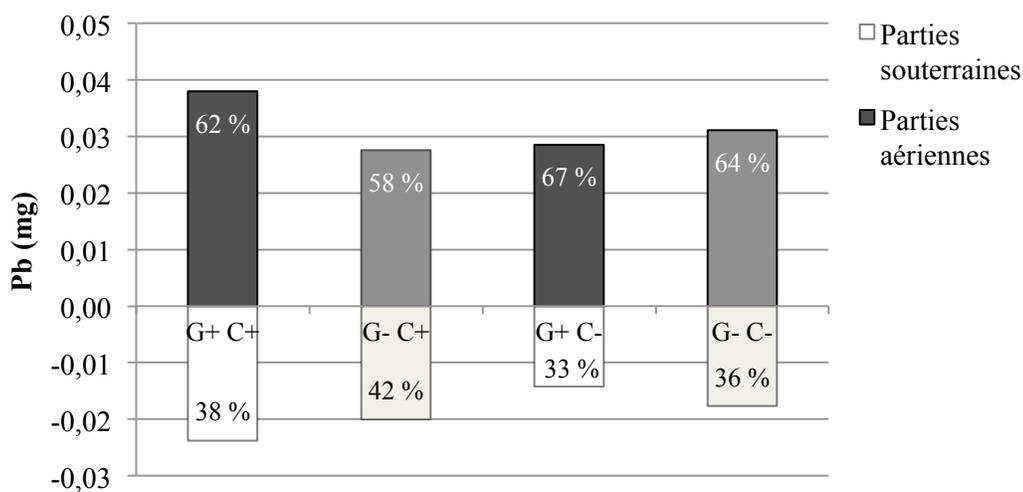


Figure 4-29: Partition entre les composantes aériennes et souterraines des plantes de la quantité totale moyenne de Pb extrait à l'HNO₃ des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

Les patrons d'accumulation du Zn (Figure 4-30) ressemblent à ceux du Cd. Alors que les concentrations étaient les plus importantes dans les feuilles, l'ensemble des quantités se trouvaient surtout dans les feuilles et les tiges, et ce, de façon similaire. De faibles quantités se retrouvaient donc dans les racines. Aucun des traitements ne se distinguait réellement dans ce

cas non plus. Cela se remarque aussi dans la répartition aérienne/souterraine de la masse totale accumulée (Figure 4-31), où les pourcentages associés aux parties aériennes sont très semblables. Ceux-ci étaient également les plus élevés de l'expérience. Selon les moyennes par traitement, les plantes ont accumulé au total entre 4,849 et 6,278 mg, avec une moyenne générale de 5,726 mg.

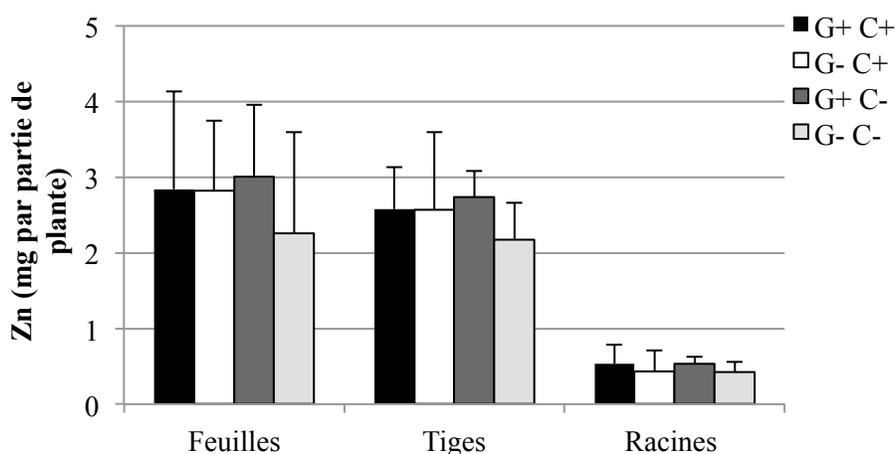


Figure 4-30: Quantités totales moyennes et écarts-types de Zn extrait à l'HNO₃ dans les parties des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

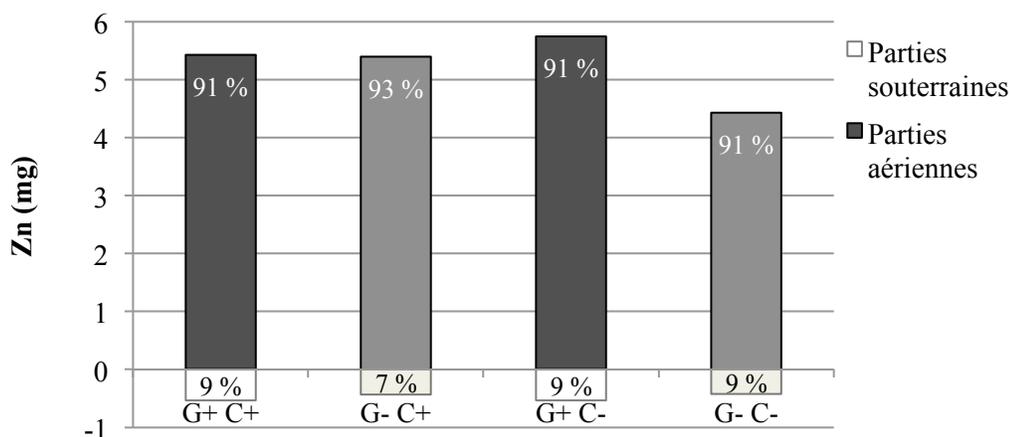


Figure 4-31: Partition entre les composantes aériennes et souterraines des plantes de la quantité totale moyenne de Zn extrait à l'HNO₃ des plantes à T1 pour les quatre traitements (n=6 pots par traitement, sauf n= 5 pour G+ C-)

4.2.4 Impact des propriétés des sols sur l'absorption des TE par les plantes

Des régressions linéaires simples ont été effectuées avec les concentrations d'ET dans les trois compartiments des plantes (racines, tiges et feuilles), et les concentrations totales dans la matrice à T0, afin d'évaluer si les concentrations initiales dans le sol permettent de prédire celles accumulées par les plantes (Tableau 4-14). Des transformations log ont été effectuées lorsqu'il était nécessaire pour obtenir la normalité des jeux de données. Seul le cas du Cu a présenté des valeurs de coefficient R^2 significatives, et ce, pour les concentrations dans les tiges (Figure 4-32) et les racines (Figure 4-33). Pour le Cd, le Pb et le Zn (graphiques non présentés), les R^2 des tiges, des feuilles et des racines étaient tous non significatifs.

Tableau 4-14: Sens de la corrélation et coefficients R^2 entre les concentrations d'ET extrait à l' HNO_3 dans les trois compartiments des plantes à T1 et les concentrations totales dans la matrice à T0

ET	Feuilles	Tiges	Racines
Cd	- 0,11	- 0,09	- 0,08
Cu	- 0,003	+ 0,54	+ 0,58
Pb	- 0,02	- 0,007	- 0,02
Zn	+ 0,003	< 0,000	- 0,25

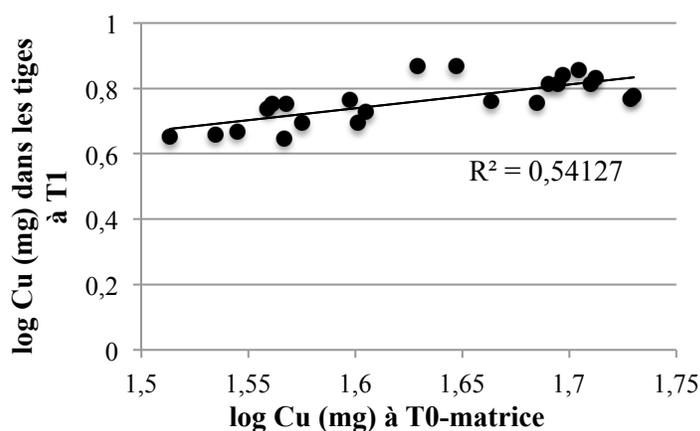


Figure 4-32 : Régression linéaire entre les concentrations de Cu extrait à l' HNO_3 à T0-matrice et à T1 dans les tiges des plantes. Le R^2 représente la valeur du coefficient de variation.

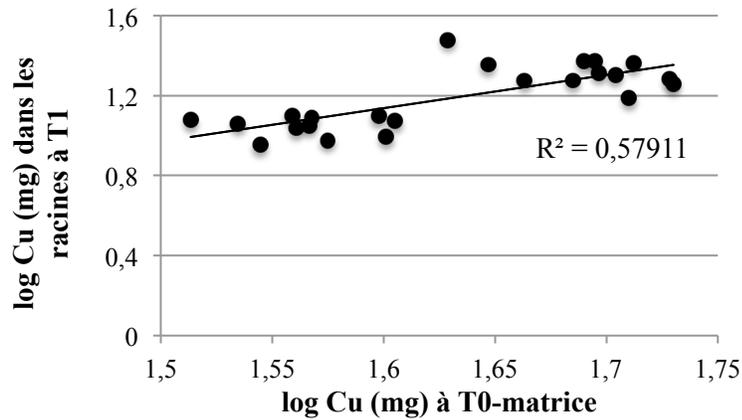


Figure 4-33 : Régression linéaire entre les concentrations de Cu extrait à l'HNO₃ à T0-matrice et à T1 dans les racines des plantes

La partition de la variance des concentrations et des quantités d'ET dans les plantes a été effectuée en fonction de trois groupes de facteurs: X1 (les concentrations totales d'ET dans les sols à T0) ; X2 (facteurs de fertilité du sol: pH, CÉ, C_{org}, CEC, Ca- H₂O, Mg- H₂O, K- H₂O, Mn- H₂O et Na- H₂O), et X3 (les concentrations d'oxydes de Fe et d'Al dans les sols à T0) (Tableau 4-15). Cette partition se décline également en fonction des interactions entre ces groupes de facteurs. De façon générale, le R² ajusté, soit la proportion de la variance attribuable à l'ensemble des variables explicatives, était peu élevé, avec une moyenne de 33 % et une médiane de 30 %. Seul le cas des concentrations souterraines de Cu se démarque. La variance des concentrations et des quantités souterraines de Cd est faiblement attribuable aux facteurs de fertilité, et de façon un peu plus marquée par l'interaction entre ces facteurs et les oxydes. Pour ce qui est du Cu, plusieurs variables entrent en jeu. Les concentrations dans les parties aériennes subissent une influence importante des facteurs X1 et X2, alors que pour celles souterraines, la variance est répartie entre les facteurs X2, l'interaction de X1 et X2, et l'interaction des trois groupes. Pour ce qui est des quantités de Cu, une faible partie est aussi attribuable à l'interaction X1 et X2. Pour les concentrations souterraines de Pb, c'est cette dernière interaction qui se démarque également. La variance des concentrations de Zn est aussi expliquée en partie par l'interaction X1 et X2, alors que pour les quantités souterraines, seule une faible proportion de l'interaction X2 et X3 est en cause. De façon générale, les variables explicatives choisies n'avaient pas une portée importante, car les résidus (1-R² total) étaient

assez élevés. Ces pourcentages élevés représentent les facteurs influençant les concentrations ou les quantités d'ET qui n'ont pas été mesurés ou collectés.

Tableau 4-15: Partition de la variance des régressions linéaires multiples entre, d'une part, les concentrations et les quantités d'ET extraites à l'HNO₃ dans les tissus des plantes et d'autre part les concentrations extraites à l'HNO₃ à T0 dans les sols (X1), les propriétés chimiques liées à la fertilité des sols (X2), la présence d'oxydes (X3), et leurs interactions. Seules les variables significatives sont présentées.

ET	Type ^a	Section	Variance totale (Y) ^b	Variables significatives					
				X1	X2	X3	X1 + X2	X2 + X3	X1 + X2 + X3
				----- % variance expliquée -----					
Cd	Conc	Souterrain	25		10			20	
	Qnt	Souterrain	30		15			21	
Cu	Conc	Aérien	36	68	49				
	Conc	Souterrain	71		28		30		15
	Qnt	Aérien	20				11		11
	Qnt	Souterrain	34				15		
Pb	Conc	Souterrain	41				42		10
Zn	Conc	Souterrain	26				36		
	Qnt	Souterrain	17					10	

a Conc = concentrations et Qnt = quantités

b Part du total de la variable totale (Y) expliquée par les combinaisons des variables explicatives (X). La somme des variables significatives résulte parfois en des valeurs supérieures à 100%, car certaines variables, non présentées ici, ont des effets négatifs, ce qui se traduit par une diminution de la variance totale.

4.3 Sommaire des résultats

Objectif 1: Quel est l'effet des inocula mycorhiziens sur l'accumulation des ET dans les plantes et sur la production de biomasse, et quelle est l'efficacité générale du traitement?

- Pour la présence du Cd et du Zn solubles dans les sols, il n'y avait pas de différences significatives induites par les mycorhizes.
- Quant au Cu et au Pb solubles, il y en avait significativement moins dans la rhizosphère des sols G+, alors qu'il n'y avait pas différence dans les matrices de sol.
- Dans le cas des concentrations d'ET totaux, le traitement mycorhize n'a pas entraîné de résultats statistiquement distincts.

- Du point de vue de l'accumulation par les plantes, les analyses ANOVA n'ont démontré aucune différence significative entre les résultats des pots G+ et G-.
- Les facteurs FCB et A/S calculés ne permettaient pas non plus de distinguer les traitements.
- Par contre, pour le Cd, le traitement G+C- se démarquait des autres avec une tendance à des accumulations plus importantes. Son facteur FCB était également plus élevé.
- Dans le cas du Pb également le traitement G+C- présentait des valeurs contrastantes, mais dans ce cas, elles étaient plus faibles, et ce, dans le compartiment des racines.

- Pour ce qui est de la biomasse produite par les plantes, l'ANOVA a calculé que le facteur mycorhize n'induisait pas d'impact significatif.
- Il était tout de même possible d'observer une tendance à une production supérieure dans le compartiment des tiges par les plantes G+ par rapport à celles G-.

- Le traitement de phytoremédiation a permis une décontamination moyenne de 5 % de la quantité de Cd; de 4 % du Cu pour les pots G-C-; et d'environ 1 % du Pb et du Zn.
- Le Cd s'est accumulé en moyenne à 89 % dans les parties aériennes des plantes; à 74 % pour le Cu, à 63 % pour le Pb, et à 92 % pour le Zn.

Objectif 2 : Quelles sont les dynamiques entre les concentrations d'ET de la rhizosphère et la matrice avant et après l'expérience ?

- Les concentrations de Cd et de Pb solubles étaient plus élevées dans la matrice que dans la rhizosphère dans le cas des sols C+.
- Dans le cas du Cu soluble, les concentrations étaient d'un même ordre de grandeur dans la rhizosphère et la matrice.
- Quant au Zn soluble, les concentrations étaient au contraire plus élevées dans la rhizosphère que dans la matrice.
- Dans le cas des concentrations de Cd et de Zn totales, elles étaient également plus élevées dans la matrice que dans la rhizosphère pour le sol C+ (et pour G+C- dans le cas du Zn), bien que ces différences n'étaient pas significatives.
- Les concentrations de Cu totales ont diminué de façon significative entre T0- matrice et T1- rhizosphère dans le cas des sols G+.
- Pour les sols C+, les concentrations de Pb ont diminué entre la matrice et la rhizosphère. Elles ont plutôt augmenté dans les sols C-, mais ces tendances ne sont pas significatives.

Objectif 3 : Comment les propriétés du sol et la contamination organique influencent-elles la capacité des plantes à absorber les ET ?

- Les concentrations initiales en ET totaux n'ont pas eu d'impact significatif sur l'absorption des ET pour le Cd, le Pb et le Zn. Pour le Cu, les concentrations à T0 expliquent une part significative de la variance de l'accumulation dans les tiges et les racines des plantes.
- Les facteurs liés à la fertilité des sols n'ont permis d'expliquer qu'une faible part de la variance pour certains cas du Cd et du Cu. La présence d'oxydes de Fe et d'Al ne s'est manifestée que par l'interaction avec les autres groupes de facteurs pour certains cas du Cd, du Cu et du Pb.
- Pour le Cu, le Pb et le Zn, les concentrations solubles d'ET (Rz et Ma) étaient plus élevées après le traitement dans les sols contaminés aux composants organiques. Les concentrations totales de Cd et de Cu (Rz et Ma) l'étaient également. Au contraire, pour Zn-HNO₃ (Rz et Ma), elles étaient plus élevées dans les sols non-contaminés.

5. Discussion

5.1 Absorption des éléments traces

5.1.1 Concentrations d'éléments traces dans les plantes

Les concentrations d'ET accumulés par les plantes montrent que *Salix purpurea* peut être considéré sous certaines conditions comme candidat potentiel à des traitements de phytoremédiation, bien que davantage d'études en champs soient requises pour le confirmer. Certes, des études en serres avec certaines variétés de *Salix* avaient mené à des accumulations plus importantes pour le Cd, par exemple. Selon une revue de la littérature, avec des taux entre 100 et 250 mg/kg dans les tissus aériens, les variétés en question avaient obtenu le statut d'hyperaccumulatrices, que d'autres chercheurs ont toutefois contesté (Dickinson, 2006). En effet, sur le terrain, l'accumulation est généralement moins élevée. Il s'avère toujours difficile de comparer les données obtenues par d'autres études, étant donné les différents facteurs influençant l'accumulation d'ET, de même que le temps de croissance accordé aux plantes, et les taux de contamination des sols. Cette comparaison peut tout de même indiquer le potentiel de l'espèce, ainsi que de l'association avec les champignons mycorhiziens.

Après une expérience en pots de deux ans, Vysloužilová et al. (2006) ont mesuré en moyenne entre 25 et 60 mg/kg de Cd dans les feuilles de plants de *Salix*, alors que les concentrations racinaires étaient de 4 à 5 fois plus élevées. Les concentrations de Pb s'élevaient à des moyennes entre 4 et 12 mg/kg dans les feuilles, et approximativement 2550 mg/kg dans les racines. Pour le Zn, elles ont atteint entre 800 et 1100 mg/kg dans les feuilles, et légèrement davantage dans les racines. Une autre étude en serre d'une saison de croissance, avec fertilisation, avait mesuré dans les feuilles de *Salix* des concentrations exceptionnellement élevées, soit de 12 à 440 mg/kg, et leurs équivalentes racinaires se trouvaient dans les mêmes ordres de grandeur (de 6 à 320 mg/kg). Pour le Zn, ces valeurs atteignaient de 240 à 2400 mg/kg, et de 86 à 650 mg/kg, respectivement (Dos Santos Utmazian & Wenzel, 2007).

Après deux années de croissance, les différents clones de saules d'une étude sur le terrain près d'une fonderie avaient accumulé dans leurs feuilles entre 20 et 45 mg/kg de Cd, entre 9 et 15 mg/kg de Cu, entre 12 et 32 mg/kg de Pb et entre 2500 et 3500 mg/kg de Zn (Ruttens et al., 2011). D'importantes variations ont par ailleurs été observées entre les clones. Meers et al. (2007) avaient obtenu, lors d'une expérience en pots (mais situés à l'extérieur) des concentrations entre 3,6 et 18,4 mg/kg de Pb dans les parties aériennes de différentes variétés d'arbustes *Salix*. Plusieurs autres études ont mis à l'essai diverses espèces et génotypes de saules, et l'étendue des concentrations mesurées pour un même élément est assurément vaste (Tableau 5-1). Ces valeurs représentent dans la plupart des cas des accumulations d'un ordre de grandeur supérieur à celles obtenues dans la présente étude (Tableau 4-10). Considérant les faibles niveaux de contamination des sols, et l'unique saison de croissance accordée aux plants, il s'agirait tout de même de résultats intéressants. Comme expliqué précédemment, les concentrations ne représentent pas non plus le seul facteur à considérer.

Les concentrations de Cd, de Cu, de Pb et de Zn, accumulées dans ce cas-ci par le cultivar de Fish Creek, dépassent les valeurs établies de concentrations retrouvées normalement dans les plantes. Plusieurs de celles-ci atteignent même les valeurs de phytotoxicité, soit les concentrations excessives (Tableau 1-3). Cela représente une caractéristique reflétant le potentiel du génotype *Salix purpurea* à tolérer et accumuler des taux élevés de contaminants. Cette capacité, détenue par plusieurs espèces de saules, est observable par leur présence fréquente sur des sites pollués. De nombreuses études utilisant diverses espèces de saules abondent dans ce sens (Vysloužilová et al., 2006).

Tableau 5-1: Exemples de moyennes ou d'étendues des concentrations d'éléments traces accumulés par diverses variétés de *Salix* au sein d'études de phytoremédiation récentes.

Étude <i>et espèces utilisées</i>	Compartiment	Élément trace (en mg/kg)			
		Cd	Cu	Pb	Zn
Baum et al., 2006 <i>Salix × dasyclados</i> et l'ectomycorhize <i>Paxillus</i> <i>involutus</i>	Feuilles	36 à 40	7 à 11	2 à 3	1651 à 2049
	Tiges	20 à 32	11 à 13	0,4 à 0,8	589 à 759
	Racines	16 à 27	34 à 59	4 à 16	570 à 709
Bissonnette et al., 2010 <i>Salix viminalis</i> et <i>Glomus</i> <i>intraradices</i>	Feuilles	2,1 - 2,2	14 - 15	3- 4	320 - 325
	Tiges	2,5 - 2,7	12 - 13	1 - 2	240 - 250
	Racines	1,1 - 1,5	37 - 60	23 - 36	110 - 145
De Maria et al., 2011 <i>Salix caprea</i> et champignon <i>Cadophora</i> <i>finlandica</i>	Feuilles	3,5 à 7	-	-	180 à 310
	Tiges	3,5 à 6,6	-	-	156 à 259
	Racines	2 à 3,5	-	-	110 à 170
French et al., 2006 <i>Salix caprea</i> * <i>cinerea</i> * <i>viminalis</i> ; <i>Salix viminalis</i> ; <i>Salix caprea</i> * <i>viminalis</i> ; <i>Salix burjatica</i> ; et <i>Salix</i> <i>viminalis</i> * <i>schwerinni</i>	Feuilles	4 à 8	5 à 12	-	400 à 750
	Tiges	4 à 7	5 à 55	-	175 à 775
	Racines	-	-	-	-
Jensen et al., 2009 <i>Salix viminalis</i>	Feuilles	18 à 83	15 à 27	2 à 4,5	1600 à 2650
	Tiges	10 à 27	8,9 à 13,6	0,25 à 1,6	230 à 441
	Racines	-	-	-	-
Mrnka et al, 2012 <i>Salix alba L</i> et <i>Glomus</i> <i>intraradices</i>	Feuilles	54,9 à 81,7	-	3,6 à 5,9	277.3 à 412.9
	Tiges	35,0 à 72,5	-	16,9 à 35,6	108.3 à 163.6
	Racines	-	-	-	-
Rosselli et al., 2003 <i>Salix viminalis</i>	Feuilles	2 - 8	8 - 10	-	130 - 230
	Tiges	1 - 6	10 - 20	-	70 - 175
	Racines	-	-	-	-
Vandecasteele et al., 2005 <i>Salix fragilis</i> et <i>Salix</i> <i>viminalis</i>	Feuilles	-	10,1 - 11,1	2,8 à 3,5	-
	Tiges	-	10,0 à 11,6	1,1 à 1,3	-
	Racines	-	157,5 à 170,3	11,5 à 13,4	-
Zhivotovsky et al., 2011 <i>S. nigra</i> , <i>S. eriocephala</i> , <i>S.</i> <i>Allegany</i> , <i>SX61</i> , <i>SX64</i> , <i>SX67</i> et <i>SV1</i>	Feuilles	-	-	7.8 – 00.9	-
	Tiges	-	-	4.9 – 469.1	-
	Racines	-	-	55 - 556	-

De plus, les plants de *Salix purpurea* ont présenté des concentrations de Cd toutes supérieures au critère A de 1,5 mg/kg déterminé par le MDDELCC (Tableau 1-2) et, pour 19 plants sur 23, au critère B de 5 mg/kg, leur procurant un statut de matière contaminée dont le traitement et le dépôt doivent suivre les lois en vigueur. Les concentrations foliaires de Zn se retrouvaient dans la même situation ; l'ensemble dépassait le critère A de 110 mg/kg, et 3 des 23 franchissaient le critère B de 500 mg/kg. De plus, les sols étudiés étaient contaminés principalement par des composés organiques (les sols C+), alors que pour les ET, les critères A du MDDELCC n'étaient même pas atteints, sauf dans le cas du Cu. Malgré ces taux initiaux faibles, des accumulations relativement importantes ont été stockées, surtout pour le Cd et le Zn. Plusieurs études ont d'ailleurs également ciblé ces deux éléments comme étant les plus intéressants à considérer pour des traitements de phytoremédiation (Baum et al., 2006, French et al., 2006, Hammer et al., 2003, Jensen et al., 2009, Meers et al., 2007, Vervaeke et al., 2003).

5.1.2 La distribution des éléments traces dans les plantes

Les accumulations des différents ET se distinguaient selon leur lieu préférentiel de stockage au sein des plantes. Dans la présente étude, les concentrations de Cd et de Zn les plus importantes se trouvaient dans les feuilles des plants de *Salix purpurea*, alors que c'est dans les racines que celles de Cu et de Pb ont été les plus abondantes. Ces observations ont été constatées à maintes reprises dans la littérature, et de nombreux ET se situent généralement dans cette même dichotomie racines/feuilles, ou alors plus globalement compartiments aériens/compartiments souterrains. Par exemple, Vysloužilová et al (2006) ont mesuré que le Cd et le Zn étaient principalement transférés vers les tiges des deux clones de saules, alors que le Pb s'accumulait sous terre. Une autre étude, effectuée notamment avec une espèce de saule, a constaté l'accumulation préférentielle du Cd et du Zn dans les feuilles, et l'entreposage dans les racines du Cu, du Pb, du Ni et du Mn (Bissonnette et al., 2010). Une revue de la littérature (Pulford & Watson, 2003) a déterminé que les espèces de plantes influencent aussi grandement le transfert des ET en leur sein.

Si l'on considère les quantités d'ET, le Cd et le Zn avaient entre 87 et 93 % de leurs contenus stockés dans les parties aériennes (Figure 4-25 et Figure 4-31). Les totaux absolus n'étaient toutefois pas du même ordre de grandeur, reflétant ainsi l'ampleur de leur présence respective dans les sols. Les quantités de Cu et de Pb se positionnaient entre les deux quant aux valeurs totales, mais leurs pourcentages de contenus stockés dans les parties aériennes étaient plus faibles, soit entre 71 et 75 % dans le premier cas, et entre 58 et 67 % dans le deuxième. Baum et al. (2006) ont mesuré des proportions semblables avec des concentrations de Cd, de Cu, de Pb et de Zn entre les parties aériennes et souterraines.

Les ratios de concentrations A/S pour le Cd et le Zn s'élèvent au-dessus de 1 (Tableau 4-11), ce qui indique une translocation efficace des éléments absorbés vers les parties aériennes en croissance. Cela confirme que les contenus élevés ne sont pas seulement dus à l'importante biomasse. Une fois à l'intérieur de la tige, les ET peuvent ainsi être transportés de façon radiale. Le mouvement rapide de la sève du xylème au phloème permet cette translocation. Il a par contre été reconnu que ce partitionnement A/S d'ET au sein des plantes est susceptible de changer avec l'augmentation de leurs concentrations dans le sol (Pulford & Watson, 2003). Dos Santos Utmazian et Wenzel (2007) avaient obtenu des ratios entre 0,45 et 5,81 pour le Cd (avec seulement 2 cas sur 12 inférieurs à 1) et entre 1,00 et 7,07 pour le Zn avec une étude utilisant six clones de *Salix* et deux types de sols avec des contaminations différentes. La revue de littérature de Pulford et Watson (2003) abonde en ce sens également.

L'étude de Vysloužilová et al. (2006) avait obtenu par contre des taux de translocation plus faibles ; soit de 0,24 en moyenne pour le Cd et 0,82 pour le Zn, avec deux clones de *Salix*. Les sols utilisés étaient toutefois lourdement contaminés, et les plantes affichaient des signes de toxicité et des baisses de rendement. Cela montre que le transfert des ET vers les feuilles pourrait être inversement corrélé à la teneur en contaminants dans les sols. Les chercheurs avaient également remarqué que les clones provenant des sites pollués avaient accumulé davantage d'ET dans leurs racines et les avaient transférés dans une moindre mesure vers les parties aériennes, par rapport aux clones provenant de sites non contaminés. Ainsi, les plantes poussant sur les sites contaminés pourraient avoir développé un mécanisme de défense qui interfère avec la translocation. Cela confronte l'idée d'utiliser des plantes bien adaptées aux

sols contaminés, l'accumulation préférentielle dans les racines n'étant pas une propriété recherchée en phytoremédiation.

Pour le Cu et le Pb, les ratios A/S n'atteignaient pas le seuil de 1, révélant que, bien qu'en quantités absolues ces ET étaient supérieurs dans les parties aériennes (en raison de l'importante biomasse produite), leur transfert vers les parties aériennes y était moins significatif que leur entreposage dans les racines. Ces éléments ne se trouvaient pas non plus en concentrations excédant celles considérées comme normales pour les plantes (Tableau 1-3), et ce, dans les trois compartiments des saules. Cela peut être attribué en partie au fait que ces deux ET sont peu mobiles, aussi bien dans la matrice de sol que dans le matériel biologique (Galvez-Cloutier & Lefrançois, 2005). Les mécanismes de défense présentés précédemment (section 1.2.4), tels que l'absorption des ET aux parois cellulaires peut aussi expliquer cette faible translocation.

Il est intéressant de noter que dans les deux cas, les ratios A/S étaient plus élevés pour les traitements C- (atteignant même presque 1 pour le Cu). Sans l'interférence des contaminants organiques, et ainsi avec un peu moins d'énergie allouée à la détoxification, un transfert plus important a sans doute pu être effectué vers les feuilles et les tiges.

Certains auteurs ont également rapporté l'effet de la présence des mycorhizes sur la translocation des ET vers les parties aériennes. Ces microorganismes peuvent réduire l'ampleur du processus en fixant les ET aux parois cellulaires, ou en amplifiant l'immobilisation intracellulaire, et ce, en étroite collaboration avec certaines souches bactériennes (De Maria et al., 2011). Pour la présente étude, cette action n'a pas été observée.

5.1.3 Effet de la rhizosphère

Puisque l'absorption des ET s'effectue à partir des ions de la rhizosphère, leur solubilisation et leur transfert vers ce compartiment sont primordiaux. L'activité des ET dans le sol étant continue et hétérogène, les concentrations mesurées à un moment précis ne peuvent procurer qu'un instantané des conditions édaphiques. Cela peut tout de même

indiquer la tendance générale et les principaux mécanismes qui y prévalent, et ainsi, préciser leur influence sur l'absorption par les plantes.

Avec le Cd, les concentrations solubles étaient plus élevées dans les sols C- que C+ dans la rhizosphère. Cela a semblé se traduire par des concentrations légèrement plus importantes chez les plantes des sols C-, du moins pour le traitement G+C-. Toutefois, les concentrations totales dans la rhizosphère étaient plus élevées dans l'autre type de sol (C+). Puisque l'absorption par les plantes a semblé suivre le rythme de solubilisation des ET, il s'agirait donc du processus de solubilisation lui-même qui aurait été le facteur limitant. En effet, les ET étaient présents dans la rhizosphère de C+, mais pas sous une forme suffisamment soluble pour permettre l'absorption par les plantes à un niveau supérieur de celui mesuré dans le traitement C-.

Pour le Cu, les concentrations solubles dans la rhizosphère étaient plus grandes dans le cas des sols C+. Au niveau des plantes, les compartiments feuilles et tiges ne présentaient pas de différences notables, alors que les racines affichaient des taux plus élevés chez les plantes des sols C+. Bien que le transfert vers les parties aériennes ne le reflète pas, les saules auraient pu suivre, dans ce cas aussi, la vitesse de solubilisation des ET. Toutefois, il y avait aussi des concentrations totales plus importantes dans les rhizosphères des sols C+. Il se peut donc que les mécanismes de transfert et de solubilisation des ET aient été moins efficaces pour les sols C-.

Pour ce qui est du Pb, les concentrations solubles les plus élevées des rhizosphères se trouvaient dans les sols C+. Par contre, au niveau des plantes, aucun patron clair ne s'y est dessiné. La vitesse de transfert des éléments solubles de la matrice vers la rhizosphère ne semble pas y avoir été un facteur déterminant, il s'agirait plutôt d'un cas où les plantes n'ont pas pu tenir ce rythme de réapprovisionnement en absorbant davantage de Pb. Comme pour le Cd, les concentrations totales de la rhizosphère étaient plus importantes pour l'autre type de sols, soit les C-. Il pourrait alors y avoir eu un problème de solubilisation du Pb à partir des concentrations totales dans C-. Cela serait attribuable en grande partie au pH relativement élevé des sols (Tableau 4-1), qui ne favorise pas la solubilité des éléments chimiquement stables sous forme de cations. En effet, puisqu'il est fortement associé à la matière organique

du sol et qu'il se lie fortement aux constituants, le Pb s'avère peu mobile sous ces conditions (Deneux-Mustin et al., 2003).

Pour le Zn soluble, les rhizosphères des sols C⁺ affichaient des taux plus élevés. Par contre, il n'y avait pas de dissemblances marquées pour les tiges et les racines, alors que les feuilles affichaient plutôt des concentrations plus importantes dans le cas des sols C⁻. De plus, les concentrations totales dans la rhizosphère étaient plus élevées pour ce même type de sol. Il semblerait que la solubilisation et le transfert de cet ET soluble n'aient pas été des facteurs limitant à l'absorption, comme le témoignent les quantités importantes accumulées par les plantes. Celles-ci absorberaient donc à un rythme inférieur que les quantités disponibles.

L'activité de la rhizosphère, en particulier l'acidification par le biais d'exsudats racinaires s'avère effectivement importante pour le processus de solubilisation des ET, mais le rôle exact de ces exsudats sur l'accumulation par la plante n'est pas encore totalement établi (Batty & Dolan, 2011). Or, l'activité de la mycorrhizosphère revêt probablement un rôle tout aussi, sinon plus, important, compte tenu du volume beaucoup plus étendu que les mycorhizes permettent d'explorer et des ET qu'elles transmettent aux racines (Fortin et al., 2008).

Chimiquement, les sols de la rhizosphère et de la matrice à T1 étaient plutôt semblables (voir Tableau 4-1). Ce n'est donc pas en modifiant substantiellement la rhizosphère que les racines et les mycorhizes ont pu absorber les ET. Une seule saison de croissance s'avère par contre une représentation très modeste du potentiel de l'activité de la rhizosphère, qui s'active avec le temps (Hinsinger & Courchesne, 2008). La différenciation du compartiment de la rhizosphère de la matrice de sol se serait probablement creusée au cours des saisons de croissance subséquentes, et ainsi les processus qui y ont cours auraient eu un effet plus prononcé sur la mobilisation des contaminants.

Dans l'état actuel des connaissances, même en utilisant les bons cultivars et espèces de plantes, le succès de la phytoremédiation peut encore être limité par la biodisponibilité des ET. Des traitements sur les sols peuvent ainsi s'avérer nécessaires afin d'augmenter la biodisponibilité, tout en devant limiter le lessivage de ces ET (Batty & Dolan, 2011).

Selon plusieurs auteurs, les relations entre les communautés microbiennes et les plantes dans la rhizosphère sont tout aussi importantes pour la phytoremédiation des composés inorganiques qu'organiques (rapporté dans Batty et Dolan, 2011). La rhizosphère est considérée comme un lieu où interagissent de façon proximale et intense trois unités, soit les plantes, le sol et les microorganismes. La quantité de bactéries, notamment, y est plus grande de plusieurs ordres de grandeur que dans la matrice. À l'instar des champignons, celles-ci peuvent également assister et augmenter l'absorption des ET par les plantes, en plus, pour certaines bactéries, d'améliorer la qualité du sol et d'accélérer la croissance des plantes (Kavamura & Esposito, 2010). Pour la phytoremédiation, la présence de certaines bactéries a contribué à augmenter l'accumulation des ET (Batty & Dolan, 2011), dont pour du Zn par une plante hyperaccumulatrice (Whiting et al., 2001).

5.1.4 Relation entre les accumulations d'ET dans les plantes et les concentrations dans le sol

5.1.4.1 Partition de la variance et régressions linéaires

Plusieurs facteurs pédologiques influencent l'absorption et la distribution des ET dans les plantes. La relation entre les concentrations dites totales d'ET dans les sols et celles accumulées a souvent été examinée. La partition de la variance des concentrations et des quantités d'ET dans les plantes (Tableau 4-10) a démontré dans ce cas-ci qu'il ne s'agissait pas d'une variable explicative satisfaisante pour prédire les tendances d'absorption et d'accumulation dans les plantes, sauf dans le cas unique des concentrations aériennes de Cu. Les concentrations pédologiques à T0 ne présentent probablement pas dans ce cas des écarts suffisamment importants pour que l'on y décèle des tendances induites par leur distribution.

Afin d'étudier plus précisément la relation entre les concentrations initiales totales dans les sols, et celles accumulées dans les plantes, des régressions linéaires simples ont été effectuées pour chacune des parties des plantes (tiges, feuilles, racines) (Tableau 4-14). Dans le cas du Cd, du Pb et du Zn, aucun des coefficients R^2 n'était significatif. D'un point de vue statistique, la faible étendue des données par rapport à leur nombre pourrait en partie expliquer

ces résultats. Dans le cas du Cu, selon les régressions linéaires simples pour les tiges et les feuilles, la part significative de la variance provenait davantage du premier compartiment que du deuxième.

Vandecasteele et al. (2005) avaient pour leur part obtenu des coefficients de corrélation R^2 positifs et très élevés, supérieurs à 0,8, pour les concentrations des feuilles, tiges et racines pour le Cd et le Zn et les concentrations racinaires de Pb par rapport à celles mesurées dans les sols. Leur expérience en serre avec deux cultivars de saules comportait toutefois une vaste étendue de concentrations, dont certaines très élevées. L'absorption par les plantes aurait donc reflété davantage ces conditions initiales. L'étude sur le terrain avec des espèces de saules (Vandecasteele et al., 2002) avait également généré des régressions significatives positives, avec des R^2 de 0,36 pour le Cd, et 0,43 pour le Zn. Dans ce cas également, l'étendue des concentrations était importante. Les auteurs suggéraient même que les saules soient considérés comme des bio-indicateurs de la teneur de ces ET dans les sols.

Le sens des relations entre les concentrations initiales du sol et celles accumulées par le saule semble dépendre fortement de l'ET en question. Dos Santos Utmazian et Wenzel (2007) avaient mesuré dans quelques cas des accumulations de Cd par les plantes supérieures pour les sols davantage contaminés. Or, l'accumulation de Zn suivait la tendance inverse, soit des valeurs croissantes avec la décroissance des concentrations. Hammer et al. (2003) avaient plutôt obtenu des concentrations de Cd plus élevées dans les sols moins contaminés, alors que les plantes poussant sur des sols fortement contaminés en Zn avaient abouti à des concentrations plus élevées. Les concentrations initiales en ET dans les sols ne constituent donc pas un facteur explicatif indépendant des autres paramètres de l'expérience (fertilité des sols, ET, plante, contamination organique).

5.1.4.2 Facteurs de concentration biologique

En mesurant les taux de transfert du sol à la plante (le FCB) (Tableau 4-11), c'est la propension à une diminution de celui-ci suivant l'augmentation du niveau de contamination du sol qui a le plus souvent été observée (Pulford & Watson, 2003, McGrath & Zhao, 2003). Cela

peut laisser supposer la présence de seuils où le sens de la corrélation bascule, seuils qui seraient différents pour chacun des ET. Au niveau du processus de phytoremédiation, le succès de celui-ci pourrait ainsi s'avérer davantage limité pour les sites lourdement contaminés. En effet, les fortes concentrations peuvent excéder un seuil de tolérance compromettant l'accumulation par les plantes (Batty & Dolan, 2011). Pour d'autres chercheurs, certains résultats contraires à cette tendance majoritaire permettent de croire que la sélection d'espèces et de clones appropriés aux ET et aux conditions pédoclimatiques permettrait d'étendre l'efficacité de la méthode aux sols lourdement pollués (Dos Santos Utmazian & Wenzel, 2007).

Les FCB pour le Cd et le Zn (Tableau 4-11) confirment cette accumulation intéressante dans les plantes, bien que les concentrations pédologiques étaient modestes. L'ensemble des valeurs calculées se situe au-dessus de la barre du 1, et même de façon très importante pour le Cd. Il semble donc y avoir eu un processus d'accumulation active et continue de ces ET par les plantes, et non pas une réaction d'indifférence. De plus, les valeurs de FCB spécifiquement pour les feuilles sont significativement plus élevées. Couplée avec les ratios A/S (traités subséquentement), cette information indique qu'il y a eu un transfert significatif à partir du lieu d'absorption, les racines, vers les lieux de production d'énergie, les feuilles. Ceci concorde avec plusieurs autres études qui ont obtenu des facteurs supérieurs à 1 pour le Cd et le Zn avec des arbustes de saule sur des sols modérément contaminés (Bissonnette et al., 2010, De Maria et al., 2011, Rosselli et al., 2003). Il a été suggéré que les taux élevés d'accumulation de ces ET dans les feuilles étaient en partie attribuables au mécanisme activé par les plantes pour les éliminer de leur organisme, grâce à la perte automnale des feuilles (Rosselli et al., 2003). Pour leur part, Dos Santos Utmazian et Wenzel (2007) ont plutôt calculé pour le Cd des FCB supérieurs sur les sols fortement contaminés par rapport aux plantes des sols qui l'étaient modérément.

Pour ce qui est du Cu et du Pb, les FCB se situent tous sous l'unité (Tableau 4-11), et sont même très basses dans le cas du Pb. Des résultats similaires ont été obtenus lors d'autres études avec des clones de *Salix* (Bissonnette et al., 2010, Rosselli et al., 2003). Ces éléments n'ont donc pas été activement accumulés par les plantes, il s'agirait plutôt d'une réaction

d'indifférence de la part des racines.

Dans la présente étude, les traitements ne se démarquent pas beaucoup au niveau des FCB, sauf dans le cas du Cd. En effet, les FCB-plant et feuilles sont plus importants pour les sols C- que C+. Sans le stress de la contamination organique, les plantes auraient été plus en mesure d'accumuler le Cd, bien qu'il ne leur soit aucunement essentiel. Les FCB-feuilles du Cu se différencient aussi légèrement entre les sols C- (plus élevés) et C+.

5.2 Mécanismes de phytoextraction

5.2.1 Effets de l'inoculation des mycorhizes

Les analyses statistiques concernant l'effet du facteur mycorhize sur l'accumulation des ET par les plantes pendant une saison de croissance montrent que, pour cette étude, l'inoculation de *Glomus irregulare* n'a pas eu d'effet significatif sur les groupes de données. Cela contredit plusieurs études sur le sujet, sur lesquelles étaient basés les objectifs de l'inoculation des mycorhizes (section 1.3.3).

D'autres chercheurs ont par contre obtenu des résultats similaires, où la présence des MA ne permettait pas de rendre la phytoextraction plus efficace (Bissonnette et al., 2010). Dans le cas présent, étant donné que les sols utilisés ne furent pas stérilisés, il est possible d'émettre l'hypothèse que ces résultats soient attribuables à la présence des mycorhizes natives qui auraient diminué l'effet potentiel du facteur à l'étude. En effet, celles-ci, bien adaptées aux conditions édaphiques, seraient entrées en compétition avec les microorganismes inoculés et se seraient liées aux plantes de façon préférentielle. Différents chercheurs ont en effet rapporté que le microbiote natif s'avère souvent un meilleur allié à la phytoremédiation que celui introduit (Baum et al., 2006, Kidd et al., 2009, Sessitsch et al., 2013). La stérilisation des sols avant l'expérience, qui permet d'éliminer ce facteur confondant, n'est toutefois pas sans conséquence, car elle change leur chimie. En éliminant l'essentiel de la vie microbiologique, les conditions de l'expérience s'éloignent davantage de celles sur le terrain et modifient la croissance régulière des plantes (Ding et al., 2011).

Un autre des facteurs possibles à considérer pourrait être la densité racinaire. En effet, lorsque la surface du sol est exploitée efficacement par un réseau racinaire dense, l'effet des mycorhizes tend à être réduit. Joner et Leyval (2001) ont suggéré que les mycorhizes permettaient d'augmenter la performance des plantes surtout lorsque la densité racinaire est plus faible. Pour la présente étude, réalisée dans un volume circonscrit, l'observation visuelle lors de l'échantillonnage a montré que les sols semblaient être couverts de façon efficiente par les racines des saules à la fin de l'expérience. Le champ d'action des mycorhizes s'en est peut-être trouvé réduit, ce qui est probable pour une expérience en pots.

Le facteur mycorhize a toutefois été perceptible pour la contamination organique, avec les HCP et les quatre composés HAP, qui se trouvaient en concentrations inférieures que dans les sols non inoculés après l'expérience. Les souches de *Glomus irregulare* auraient été plus performantes que celles natives pour dégrader ces composés organiques, ce qui constitue un avantage considérable pour les sites de contamination mixte.

Pour notre étude, l'effet des mycorhizes sur la production de biomasse des plantes ne s'est exprimé que pour le compartiment des tiges, avec des valeurs plus élevées dans les cas des G+ que des G-. Étant donné que les tiges représentaient un peu plus que la moitié du poids total des plantes (par rapport aux racines et aux feuilles qui représentent environ le quart chacun), cela a un impact intéressant. L'augmentation de la production de biomasse en présence de mycorhizes a été rapportée par plusieurs auteurs et constitue actuellement un apport important à la phytoremédiation (Bissonnette et al., 2010, Lopez de Andrade et al., 2008, Meharg, 2003, Wang et al., 2005).

Quelques auteurs ont également noté une influence des mycorhizes sur le transfert et la distribution des ET dans les plantes. En fonction de combinaisons particulières de plante-champignon-ET, des augmentations (Sell et al., 2005) et des diminutions (Bissonnette et al., 2010, Mrnka et al., 2012) du transfert vers les parties aériennes ont été observées. Dans le cas de la présente étude, similairement à l'accumulation des ET comme telle, leur distribution ne semble pas avoir été influencée par l'inoculation des souches de mycorhizes, et ce, probablement pour les mêmes causes.

Tel qu'expliqué précédemment (section 1.3.3), d'autres études de phytoremédiation avec le saule, et effectuées avec un autre type de mycorhizes, soit les ectomycorhizes, pour former l'association avec les plantes, ont obtenu des résultats concluants (Baum et al., 2006, Mrnka et al., 2012, Sell et al., 2005). En effet, les saules ont cette capacité plutôt rare de s'associer aux deux sortes de mycorhizes. Certaines études ont même parfois recensé uniquement des espèces d'ectomycorhizes sur les racines de *Salix sp.* dans certains habitats (Mrnka et al., 2012). Il est donc possible de croire que ce type de mycorhize aurait pu montrer une association productive avec *Salix purpurea* à des fins de phytoremédiation.

5.2.2 Effets de la contamination organique (sols C+/C-)

Dans la présente étude, les deux niveaux de contamination des sols ont davantage influencé le processus de phytoremédiation que le traitement de mycorhizes.

La contamination aux composés organiques (sols C+) n'a d'abord pas entravé la solubilisation des ET. En effet, les sols C+ ont même montré des augmentations plus importantes des concentrations solubles entre T1 et T0 que les sols C- dans le cas du Cd et du Pb. Dans les autres cas, il ne semblait pas y avoir de différences significatives.

Quant aux concentrations totales, c'est seulement dans le cas du Cd que la contamination des sols C+ a semblé entraver le processus, avec des diminutions légèrement moins importantes dans la matrice de sol entre T1 et T0 que dans le cas des sols non contaminés aux composés organiques. Dans le cas du Pb, à T1, le facteur contamination (C+) a entraîné un transfert plus faible des concentrations totales vers la rhizosphère, alors que pour les sols C-, ces dernières dépassent celles de la matrice. En considérant les taux tels quels, l'ensemble des concentrations totales de Cd et de Cu équivalentes étaient plus élevées pour les sols C+ que C-. On retrouvait la même tendance pour le Pb avec la matrice de sol. Pour le Zn, même si ce n'était pas significatif, c'est la tendance inverse qui s'est manifestée, soit des valeurs inférieures pour les sols C+ par rapport à leurs équivalents C-.

Globalement, la décontamination du Cd et du Pb (Figure 4-17), a été un peu plus grande pour les sols C- que C+, mais cela ne s'exprimait que par une tendance, et n'était pas statistiquement significatif. Pour le Cu et le Zn, il n'y avait pas de tendance marquée, seul le traitement G-C- était plus fructueux dans les deux cas.

En évaluant l'effet du facteur contamination organique sur l'accumulation des ET par les plantes, on remarque d'abord que pour le Cd, cela a un peu entravé l'absorption, avec le traitement G+C- qui se démarquait particulièrement. Pour le Cu, le processus inverse s'est produit, avec des concentrations plus élevées pour les sols C+, mais uniquement au niveau des racines. C'est au niveau du transfert vers les parties aériennes que la contamination organique a eu le plus d'impact sur les plantes. En effet, les ratios A/S de l'ensemble des ET étudiés (Tableau 4-11) étaient tous plus élevés pour les sols sans contamination organique que ceux qui en contenaient.

Après l'unique saison de croissance, le facteur contamination organique n'a pas influencé significativement la croissance des plantes et la production de biomasse.

Les plantes ne semblent donc pas avoir souffert de la contamination mixte, même que les concentrations solubles du Cd et du Pb étaient supérieures pour C+. Pour le Cd et le Zn, bien qu'il y ait de petites différences entre les deux types de sols, les FCB et ratios A/S élevés montrent que les plantes ont pu absorber de façon importante, peu importe les conditions. L'interaction des différentes substances n'a pas semblé affecter la biodisponibilité des ET, tel qu'il est courant de le constater (Batty & Dolan, 2011). C'est plutôt le transfert vers les parties aériennes qui en a souffert, mais pas de façon très marquée.

Inversement, dans tous les sols équivalents entre T0 et T1 (Tableau 4-2), il y a eu une diminution des composés organiques, sauf pour le chrysène au traitement G-C+. Un certain processus de dégradation s'est donc produit, grâce à l'interaction des plantes et des communautés microbiennes de la rhizosphère (Batty & Dolan, 2011). La présence d'ET toxiques n'a pas inhibée significativement cette phytodégradation.

5.2.3 Effets des caractéristiques des sols

5.2.3.1 Conditions initiales des sols

La partition de la variance des concentrations totales et des quantités d'ET dans les plants a permis d'évaluer l'incidence de différents facteurs liés à la fertilité des sols (pH, CÉ, C_{org}, CEC, Ca-H₂O, Mg-H₂O, K- H₂O, Mn- H₂O et Na-H₂O), ainsi que de leur interaction avec les autres facteurs (Tableau 4-15). L'influence de ces variables représente certes une contribution modeste à l'ensemble du processus d'absorption des ET, mais non pas anodine, considérant la période de croissance limitée et l'espace restreint accordé aux plantes, ainsi que la complexité du système sol-plantes. Au-delà de la croissance normale des plantes utilisées, les liens entre les différents facteurs de fertilité des sols et la phytoextraction restent toutefois à définir.

La présence des oxydes de Fe et d'Al dans les sols à T0 a également été étudiée quant à l'accumulation des ET par les plantes. Puisque les ET étudiés ici se retrouvent principalement sous forme cationique, la présence de ces oxydes peut influencer négativement la mobilité et la biodisponibilité des ET. En effet, les minéraux oxydés offrent des sites d'absorption des ET présents sous forme cationique dans les sols au pH peu acide, ce qui les retient aux particules du sol (Violante et al., 2007). Selon la partition de la variance (variable X3) (Tableau 4-15), cela n'a toutefois pas été un facteur considérable pour la présente étude. Le Fe – H₂O et l'Al - H₂O étaient par contre présents en très faibles quantités à T0 dans les sols de l'expérience (Tableau 4-1), et ils ne se déclinaient pas selon une grande étendue.

5.2.3.2 Transfert des éléments traces non labiles à labiles

Dans tous les cas pour le Cd, le Cu, et pour les sols C+ avec le Pb et le Zn, les concentrations solubles dans l'H₂O étaient supérieures après l'expérience (T1) qu'avant (T0). Il est donc possible de suggérer que dans ces cas, le processus de solubilisation, que l'on peut considérer comme le passage des ET de la phase solide (extractibles à l'acide) vers la phase labile (solubles dans l'eau), s'est déroulé à une vitesse suffisante pour fournir les plantes selon leur vitesse d'absorption. C'est également ce qui a été suggéré par Vyslouzilová et al. (2006)

pour l'accumulation du Pb et du Zn par des plants de *Salix × rubens*. En conséquence, pour le Pb et le Zn dans les sols C- de notre expérience, la vitesse de transfert aurait donc été un élément limitant du système, contraignant l'absorption potentielle par les plantes.

McGrath et al. (2001) ont démontré que les ET absorbés par les plantes ne provenaient pas seulement du pool initial d'ET solubles, mais aussi de ceux dérivés de leurs formes moins biodisponibles (cations complexés ou chélatés). Le taux de réapprovisionnement, c'est-à-dire la vitesse à laquelle le sol peut restaurer l'épuisement des ET dans la solution de sol, serait ainsi lié à la spéciation dans la phase solide. Vysloužilová et al. (2006) ont suggéré que pendant la croissance des plantes et des mycorhizes, se produit une mobilisation substantielle des ET à partir des fractions moins mobiles vers la fraction labile, dont témoigne l'accroissement du carbone organique à la fin de l'expérience dans la rhizosphère par rapport à la matrice.

Certains auteurs avaient plutôt noté une diminution de la fraction labile des ET dans la rhizosphère, attribuée à l'absorption par les plantes, et non à la précipitation ou l'immobilisation dans le sol (Kidd et al., 2009). Dans ces cas, qui concernent souvent des plantes hyperaccumulatrices, le taux de mobilisation de ces ET dans le sol n'aurait donc pas été suffisant pour suivre le rythme d'absorption.

De plus, pour le Cd et le Pb labiles dans les sols C+, les concentrations étaient plus élevées à T1 dans la matrice de sol que dans la rhizosphère. Dans ces situations, la vitesse de transfert vers la phase labile se serait déroulée plus rapidement que le passage de ces ions vers la rhizosphère. Après une seule saison de croissance, cette situation ne semble pas contraignante pour le potentiel d'accumulation futur, d'autant plus que les hyphes des mycorhizes sont en mesure d'absorber ces ET solubles dans la matrice de sol. Le Cd et le Pb représentent au sein de cette expérience les deux ET non essentiels pour les plantes, et ceux qui ont été le moins absorbés. Cette absorption s'est donc déroulée plus lentement que pour les autres ET, et les processus de transfert vers la phase labile avaient suffisamment de temps pour se produire.

Pour le Cu, les concentrations étaient plutôt équivalentes entre les compartiments matrice et rhizosphère à T1. Les processus de solubilisation et de transfert vers la rhizosphère s'y seraient déroulés relativement à la même vitesse. Le Cu est un élément essentiel pour les plantes, et est le deuxième ET le plus absorbé par les saules dans notre expérience. Le Cu y est donc naturellement solubilisé et absorbé. Quant au Zn, ce sont les concentrations dans la rhizosphère qui étaient plus importantes à T1. Le taux de Zn labiles dans la rhizosphère y était suffisant, et même excédant à ce que les plantes pouvaient absorber. Le Zn est également un nutriment, et il a été de loin le plus accumulé au sein des *Salix purpurea*.

À l'inverse, pour les concentrations totales de Cd, Cu, Pb et pour deux traitements du Zn (G+C+ et G-C-), les taux étaient plus élevés à T0 qu'à T1, en accord avec le but du projet. Pour le Cd et le Pb dans les sols C+, et pour le Cu et le Zn dans tous les sols, les concentrations étaient supérieures dans la matrice que dans la rhizosphère. Le pool d'ET accumulés par les plantes a sans doute été constamment renouvelé par une nouvelle quantité d'ET dans la rhizosphère, bien que les concentrations demeuraient plus importantes dans leur lieu d'origine, la matrice.

6. Conclusion

6.1 Retour sur les objectifs et les résultats

L'expérience de phytoremédiation présentée ici avait comme premier objectif de tester la variable de la présence des mycorhizes inoculées *Glomus irregulare* sur le processus d'absorption et d'accumulation du Cd, du Cu, du Pb et du Zn par les plants de *Salix purpurea*. En comparant les concentrations totales extraites à l'HNO₃, avant et après l'expérience, les variations observées entre les plants inoculés et non inoculés n'étaient pas statistiquement significatives. Les concentrations solubles, extraites à l'H₂O, n'ont pas non plus été influencées dans les cas du Cd et du Zn, alors que dans les rhizosphères des sols, celles de Cu et de Pb étaient inférieures en présence des mycorhizes. En considérant l'accumulation dans la biomasse des plantes, l'effet des mycorhizes n'était pas perceptible, autant au niveau des concentrations et des quantités brutes, que des facteurs de concentration et de la distribution au sein des plantes. Seul un traitement, G+C-, dans le cas du Cd et du Pb, se différenciait, mais de façon opposée ; avec des concentrations plus élevées pour le Cd, et plus faibles dans les racines pour le Pb. La biomasse produite a été supérieure dans les tiges des plants mycorhizés, mais cette répercussion n'était pas significative sur l'ensemble des saules. Néanmoins, dans le cas des composés organiques, les HCP et HAP ont été davantage dégradés par les plants inoculés.

Les mycorhizes introduites n'auraient ainsi peut-être pas été en mesure de compétitionner avec les souches natives qui étaient présentes dans les sols récupérés sur le terrain. Cela n'aurait pas entravé le processus d'extraction des ET, mais seulement notre examen spécifique de ce microorganisme. De plus, différentes études ont plutôt inoculé des espèces de champignons ectomycorhiziens (qui croissent autour des racines) aux saules et ont obtenu des résultats positifs pour le processus de phytoextraction (Baum et al., 2006). Cela représente une approche intéressante à approfondir.

Il a aussi été observé que malgré les faibles taux initiaux de contamination, les saules ont absorbé des concentrations considérables d'ET. Elles s'avéraient supérieures aux critères A du MDDELCC, et même du critère B pour quelques plants dans le cas du Cd et du Zn.

Comme plusieurs autres études l'ont conclu, ces deux éléments représentent ceux qui sont les plus intéressants à viser avec une espèce de *Salix*. La distribution des ET au sein de la plante a aussi confirmé un transfert important du Cd et du Zn vers les parties aériennes, et un stockage plus important du Cu et du Pb dans les racines.

Quant au deuxième objectif, soit de déterminer l'activité des ET dans la rhizosphère par rapport à la matrice de sol et le taux de transfert vers la phase labile, il a été étudié par le biais des écarts entre les concentrations solubles (H_2O) et totales (HNO_3) de ces deux compartiments. En considérant les différences entre les deux types de concentrations, il s'est produit dans le cas du Cd et du Pb une inversion entre les sols des traitements C+ ou C- par rapport aux concentrations les plus importantes. Les sols C+ présentaient davantage de concentrations totales, mais moins d'ET solubles que les sols C-, alors que les plantes des sols C- en avaient absorbé davantage. Les mécanismes de transfert et de solubilisation des ET auraient ainsi été moins efficaces pour les sols C+. Pour le Cu et le Zn, les concentrations solubles et totales étaient supérieures pour les sols C+, mais cela ne se reflétait pas dans les patrons d'accumulation par les plantes. Il semble que la vitesse de transfert n'y ait pas été un facteur limitant du système, et que les plantes aient pu suivre le rythme de la mise en disponibilité par leur absorption.

En considérant les ET solubles, dans plusieurs des cas, soit pour tous les traitements avec le Cd, le Cu et pour les sols C+ avec le Pb et le Zn, celles-ci avaient augmenté dans les sols après l'expérience. Cela porte à croire que le passage des ET vers la phase labile ce serait effectué à un rythme suffisant, car ils se trouvaient à ce moment en excès, et non absorbés par les plantes.

Après une saison de croissance, les plantes n'avaient pas encore modifié considérablement le sol de la rhizosphère par rapport à celui de la matrice, et pas, non plus, influencé la spéciation des ET. Cela n'exclut pas qu'elles aient pu puiser dans le pool des ET moins mobiles, car celui d'ET solubles mesuré à T0 s'avérait bien inférieur à ce qui a été absorbé par les plantes.

Le troisième objectif visait à déterminer l'influence des caractéristiques des sols sur le

processus de phytoextraction et a été étudié par une partition de la variance et des régressions linéaires. En ce qui concerne les taux d'ET totaux dans les sols avant l'expérience, ceux-ci n'ont pas eu un impact significatif sur l'absorption par les plantes pour Cd, Pb et Zn. À l'inverse, pour Cu, la partition de la variance a mesuré que les concentrations aériennes dans les plantes étaient expliquées à 36 % par les variables explicatives étudiées, et au sein de ce groupe, à 68 % par les concentrations initiales d'ET dans le sol. Les régressions linéaires ont permis de déterminer que ce sont surtout les tiges qui présentaient une corrélation, de même que les racines.

Pour leur part, les facteurs sélectionnés pour estimer la fertilité du sol (pH, CÉ, C_{org}, CEC, Ca-H₂O, Mg-H₂O, K-H₂O, Mn-H₂O et Na-H₂O), groupés sous une variable dans la partition de la variance, n'ont pas été significatifs pour le Pb, ni le Zn. Ils l'ont été faiblement pour les concentrations et les quantités souterraines de Cd dans les plantes, ainsi que pour les concentrations aériennes et souterraines de Cu. L'interaction entre les concentrations initiales dans le sol et les facteurs de fertilité a aussi été significative dans quelques cas pour le Cu, le Pb et le Zn. Finalement, la présence d'oxydes de Fe et d'Al ne s'est pas avérée un facteur significatif en tant que variable unique, mais seulement avec l'interaction avec les autres variables explicatives.

Les caractéristiques du sol avant l'expérience, en particulier les concentrations initiales en ET, n'étant pas très différentes entre les pots, cela aurait contribué à ce que leur influence soit difficile à percevoir.

L'étude a également permis de comparer le processus de phytoremédiation entre un sol principalement contaminé aux éléments inorganiques, et un autre présentant une contamination mixte. On y a constaté que la contamination mixte n'a pas entravé le processus de phytoextraction ni la production de biomasse. Une phytodégradation des composés organiques s'y est même opérée. Seul le transfert des ET absorbés vers les parties aériennes semble avoir été perturbé chez les plantes des sols C⁺, ce qui indique que la contamination organique a tout même représenté un facteur de stress pour les plantes.

6.2 Limites de l'étude

Du point de vue de la contribution de cette étude à la recherche en phytoremédiation, il est important de reconnaître ses limites. La transférabilité des résultats obtenus en serre vers le terrain s'avère d'abord difficile à déterminer. Dans la majorité des cas, pour des concentrations initiales semblables d'ET dans les sols, les plantes qui croissent en serres en accumulent généralement des concentrations plus importantes que celles qui poussent sur le terrain. On a mesuré que l'extraction des ET sur le terrain ne pouvait correspondre qu'à 20 % de ce qui est estimé avec les résultats d'expériences en serre (Dickinson et al., 2009). Ce résultat s'expliquerait par une plus grande homogénéité des sols et par l'espace restreint dans les pots. Ces facteurs induisent une densité racinaire plus élevée, dont l'intensité procure une plus grande solubilisation consécutive des ET. Cela empêche également les racines de pouvoir éviter les sections plus contaminées du sol, et augmente ainsi l'accumulation des ET par les plantes (Zhitovovsky et al., 2011). De plus, les conditions de croissance des plantes en serre recréent un environnement idéal, notamment au niveau de l'éclairage, de l'arrosage, de l'(absence de) compétition entre espèces, des insectes ravageurs, bref un environnement exempt des principaux stress que peuvent rencontrer les plantes en milieux naturels. Celles-ci ont donc un plus grand potentiel de croissance et d'efficacité d'absorption en serre.

Jensen et al. (2009) ont tout de même obtenu des concentrations plus élevées de Cd et de Zn sur le terrain qu'en serre, et ce, avec les mêmes sols. Ils suggérèrent que la plus longue période de croissance et de transpiration des plantes sur le terrain permet d'expliquer ce résultat singulier, de même que l'hétérogénéité des sols du terrain, qui aurait dans ce cas joué en faveur de l'accumulation.

En raison de l'espace restreint de la serre, ainsi que de la taille des pots qui limite l'établissement racinaire, une seule saison de croissance a été réalisée pour évaluer l'efficacité des saules arbustifs. Il n'est donc pas possible d'estimer une tendance à long terme quant aux disparités entre les saisons de croissances à l'aide de nos résultats. L'évaluation du plein potentiel que pourraient avoir ces plantes sur le terrain est aussi limitée. Toutefois, dans le cadre du projet GénoRem (voir chapitre 2), des études sur le terrain et s'étendant sur quelques années ont été conçues afin de générer des résultats complémentaires à ceux de l'expérience

en serre. Les données obtenues en serre quant à l'inoculation des mycorhizes sur le processus de phytoextraction ont notamment servi de test préalable à l'inoculation potentielle sur le terrain.

Pour le développement de nouvelles stratégies de phytoremédiation, ces essais en serre sont des outils efficaces, car ils permettent notamment de contrôler certains paramètres, d'isoler les variables d'intérêts et de tester de nouvelles techniques de façon moins onéreuse (Schmidt, 2003). Dans le cas de cette étude, l'inoculation de mycorhizes et les deux niveaux de contamination représentent les variables étudiées plus spécifiquement qui nécessitaient un plus grand contrôle des facteurs confondants.

6.3 Les perspectives pour la phytoremédiation à l'aide des saules

De nombreuses méthodes sont actuellement étudiées afin d'optimiser le processus de phytoextraction des ET, et les perspectives de recherche quant à l'augmentation de leur biodisponibilité sont multiples. Afin d'abord de prévenir que le temps de réponse du sol ne soit un facteur limitant à l'absorption des ET par les plantes, il a été suggéré d'utiliser des espèces de bactéries qui, par leurs exsudats, augmentent la mobilisation des ET, et ainsi leur accumulation par les plantes (Sessitsch et al. 2013). Certaines espèces de bactéries, les *Plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR) sont également utilisées pour leur apport à la croissance des plantes, par le biais de mécanismes divers tels que l'amélioration de la nutrition minérale, la lutte contre les maladies ou la production d'hormones, ou pour leur influence sur la physiologie des plantes, en augmentant par exemple la perméabilité des cellules racinaires. Cette relation symbiotique peut aussi s'exprimer avec la germination et la croissance des champignons MA (Artursson et al., 2006). Dans plusieurs des cas rapportés par Sessitsch et al. (2013), l'accroissement de l'accumulation d'ET était due aux productions plus importantes de biomasse au niveau des tiges des plantes.

De plus, l'utilisation de l'agent chélateur EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) pour adresser ce problème de biodisponibilité s'est généralement conclue par des traitements de phytoextraction plus efficaces (French et al., 2006, Zhivotovsky et al., 2011), car l'EDTA

permet de solubiliser les ET ciblés. Li et al. (2010) ont pour leur part suggéré d'utiliser en complément le lactate d'éthyle, un composé moins dommageable que l'EDTA, critiqué pour son caractère non biodégradable, son inhibition de la croissance des plantes ainsi que pour les risques associés à un plus grand lessivage des ET vers la nappe phréatique et les eaux de surface. Un autre composé substitut, l'EDDS, a été utilisé avec succès, mais son coût élevé restreint son application. Il est donc nécessaire de tester d'autres additifs appropriés et accessibles pour remplacer ou du moins réduire le dosage de l'EDTA et les autres agents chélateurs non biodégradables.

À l'inverse, le problème d'un lessivage trop rapide des ET vers les couches plus profondes et non accessibles aux racines de plantes, particulièrement en sols acides où la solubilisation des ET est généralement intensifiée, se pose aussi. Pour pallier à ces problèmes, des chercheurs ont proposé une double gestion des sols contaminés, avec d'une part des sous-produits industriels (boue de gravier et boue rouge) afin d'initialement immobiliser le Cd et le Zn pendant les phases d'établissement des plantes, et d'autre part un agent acidifiant (le soufre) pour ensuite augmenter la mise en solution des ET au sein des rhizosphères (Iqbal et al., 2012). La possibilité de la remobilisation du Cd et du Zn, et ainsi une amélioration de l'efficacité de la phytoextraction ont été démontrées au cours de cette expérience.

Finalement, si la recherche en phytoremédiation compte s'adresser aux sols aux prises avec plusieurs ET, ou des contaminations mixtes, il est primordial que l'avenue de l'association d'une combinaison d'espèces de plantes soit approfondie. Celles-ci pourraient simultanément dégrader les composés organiques et accumuler les polluants inorganiques, ou alors cibler des ET différents en fonction de leurs capacités (Batty & Dolan, 2011). La culture conjointe de différentes espèces a également le potentiel d'explorer un plus grand volume de sol grâce aux systèmes racinaires distincts, et de supporter différents consortiums microbiens dans leur rhizosphère, ce qui augmente leurs fonctions. Ces différentes rhizosphères peuvent en outre être préconisées pour optimiser l'état nutritionnel des sols en fonction de leurs capacités respectives, par exemple à l'aide de plantes fixant l'azote et de microorganismes solubilisant le phosphore (rapporté par Wenzel, 2009). Le potentiel d'associations est énorme, mais la mixité des espèces peut aussi entraîner une compétition non bénéfique. C'est pourquoi

la culture successive d'espèces différentes, soit une association d'espèces conçue de façon temporelle plutôt que spatiale, est aussi envisageable.

Bibliographie

Adriano DC, 1999. *Bioremediation of contaminated soils*. Madison, Wis.: American Society of Agronomy : Crop Science Society of America : Soil Science Society of America.

Alkorta I, Garbisu C, 2001. Phytoremediation of organic contaminants in soils. *Bioresource Technology* 79, 273-6.

Artursson V, Finlay RD, Jansson JK, 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology* 8, 1- 10.

Audet P, Charest C, 2007. Dynamics of arbuscular mycorrhizal symbiosis in heavy metal phytoremediation: Meta-analytical and conceptual perspectives. *Environmental Pollution* 147, 609-14.

Banuelos G, Ajwa H, 1999. Trace elements in soils and plants: an overview. *Journal of Environmental Science & Health Part A* 34, 951-74.

Batty LC, Dolan C, 2011. The Potential Use of Phytoremediation for Sites With Mixed Organic and Inorganic Contamination. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 43, 217-59.

Baum C, Hryniewicz K, Leinweber P, Meißner R, 2006. Heavy-metal mobilization and uptake by mycorrhizal and nonmycorrhizal willows (*Salix* × *dasyclados*). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 169, 516-22.

Bell TH, Hassan SE-D, Lauron-Moreau A, Al-Otaibi F, Hijri M, Yergeau E, St-Arnaud M, 2014. Linkage between bacterial and fungal rhizosphere communities in hydrocarbon-contaminated soils is related to plant phylogeny. *The ISME Journal: Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology* 8, 331-43.

Bissonnette L, St-Arnaud M, Labrecque M, 2010. Phytoextraction of heavy metals by two Salicaceae clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial. *Plant and soil* 332, 55-67.

Canada AA (Agriculture et agroalimentaire), 2014. Texture du sol et qualité de l'eau. In. *Pratiques agricoles*. <http://www.agr.gc.ca/fra/science-et-innovation/pratiques-agricoles/sol-et-terre/le-sol-et-l-eau/texture-du-sol-et-qualite-de-l-eau/?id=1197483793077>

Canada ECC (Environnement et changements climatiques), 2014. Biphényles polychlorés (BPC). In. *Pollution et déchets*. <http://www.ec.gc.ca/bpc-pcb/Default.asp?lang=Fr&n=52C1E9EF-1>

Canada S (Santé), 2013. Hydrocarbures aromatiques polycycliques. In. *Santé de l'environnement et du milieu de travail*. http://www.hc-sc.gc.ca/ewh- semt/pubs/contaminants/psl1-lsp1/hydrocarb_aromat_polycycl/index-fra.php

- Carter MR, 1993. *Soil sampling and methods of analysis*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Citterio S, Prato N, Fumagalli P, *et al.*, 2005. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* induces growth and metal accumulation changes in *Cannabis sativa* L. *Chemosphere* 59, 21-9.
- Dalpé Y, 2005. Les mycorhizes: un outil de protection des plantes, mais non une panacée. *Phytoprotection* 86, 53-9.
- De Maria S, Rivelli AR, Kuffner M, *et al.*, 2011. Interactions between accumulation of trace elements and macronutrients in *Salix caprea* after inoculation with rhizosphere microorganisms. *Chemosphere* 84, 1256-61.
- Deneux-Mustin S, Roussel-Debet S, Mustin C, *et al.*, 2003. Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces (influence des micro-organismes du sol). Paris: Édition TEC & DOC, 304 p.
- Dickinson N, 2006. Phytoremediation of industrially-contaminated sites using trees. In. *Phytoremediation of Metal-contaminated Soils*. Springer, 229-40.
- Dickinson NM, Baker AJM, Doronila A, Laidlaw S, Reeves RD, 2009. Phytoremediation of inorganics: realism and synergies. *International Journal of Phytoremediation* 11, 97-114.
- Dickinson NM, Pulford ID, 2005. Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail. *Environment International* 31, 609-13.
- Ding Q, Liang Y, Legendre P, *et al.*, 2011. Diversity and composition of ectomycorrhizal community on seedling roots: the role of host preference and soil origin. *Mycorrhiza* 21, 669-80.
- Dos Santos Utmazian MN, Wenzel WW, 2007. Cadmium and zinc accumulation in willow and poplar species grown on polluted soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 170, 265-72.
- Fillion M, Brisson J, Guidi W, Labrecque M, 2011. Increasing phosphorus removal in willow and poplar vegetation filters using arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecological Engineering* 37, 199-205.
- Finlay RD, 2004. Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. *Mycologist* 18, 91-6.
- Fortin JA, Plenchette C, Piché Y, 2008. *Les mycorhizes : la nouvelle révolution verte*. Québec: Éditions MultiMondes. 195 p.
- French CJ, Dickinson NM, Putwain PD, 2006. Woody biomass phytoremediation of contaminated brownfield land. *Environmental Pollution* 141, 387-95.

- Galvez-Cloutier R, Lefrancois P, 2005. Les sols contaminés par des métaux lourds: Distribution géochimique et techniques de restauration (Première partie). *Vecteur environnement* 38.
- Garcia G, Zanuzzi AL, Faz A, 2005. Evaluation of heavy metal availability prior to an in situ soil phytoremediation program. *Biodegradation* 16, 187-94.
- Gaur A, Adholeya A, 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science* 86, 528-34.
- Hall JL, 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53, 1-11.
- Hammer D, Kayser A, Keller C, 2003. Phytoextraction of Cd and Zn with *Salix viminalis* in field trials. *Soil Use and Management* 19, 187-92.
- Hendershot W, Lalonde H, Duquette M, 2008. Soil reaction and exchangeable acidity. In: Carter Mr GE, ed. *Soil Sampling and Methods of Analysis, second edition*. Boca Raton: CRC Press, 1224 p.
- Hinsinger P, Courchesne F, 2008. Biogeochemistry of metals and metalloids at the soil-root interface. In. *Biophysic-chemical Processes of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments*. Hoboken, USA Wiley, 267-311.
- Iqbal M, Puschenreiter M, Oburger E, Santner J, Wenzel WW, 2012. Sulfur-aided phytoextraction of Cd and Zn by *Salix smithiana* combined with in situ metal immobilization by gravel sludge and red mud. *Environmental Pollution* 170, 222-31.
- Jensen JK, Holm PE, Nejrup J, Larsen MB, Borggaard OK, 2009. The potential of willow for remediation of heavy metal polluted calcareous urban soils. *Environmental Pollution* 157, 931- 7.
- Joner E, Leyval C, 2001. Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. *Biology and Fertility of Soils* 33, 351-7.
- Kabata-Pendias A, 2001. *Trace Elements in Soils and Plants Third Edition*. CRC Press. 413 p
- Kabata-Pendias A, 2004. Soil-plant transfer of trace elements—an environmental issue. *Geoderma* 122, 143-9.
- Kavamura VN, Esposito E, 2010. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. *Biotechnology Advances* 28, 61-9.
- Khan AG, 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18, 355-64.

Khan AG, Kuek C, Chaudhry TM, Khoo CS, Hayes WJ, 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41, 197-207.

Khatisashvili G, 2006. *Biochemical Mechanisms of Detoxification in Higher Plants*. [New York]: Springer-Verlag.

Kidd P, Barcelo J, Pilar Bernal M, *et al.*, 2009. Trace element behaviour at the root-soil interface: Implications in phytoremediation. *Environmental and Experimental Botany* 67, 243-59.

L'Heureux C, 2011. *Connectivité hydrologique et signature géochimique à l'échelle événementielle dans un bassin versant forestier*. Montréal: Université de Montréal. Mémoire de maîtrise sous la supervision de F. Courchesne.

Legendre P, Legendre L, 2012. *Numerical Ecology*. Amsterdam: Elsevier.

Leyval C, Joner E, Del Val C, Haselwandter K, 2002. Potential of arbuscular mycorrhizal fungi for bioremediation. In. *Mycorrhizal technology in agriculture*. Springer, 175-86.

Li JH, Sun YY, Yin Y, *et al.*, 2010. Ethyl lactate-EDTA composite system enhances the remediation of the cadmium-contaminated soil by Autochthonous Willow (*Salix x aureo-pendula* CL 'J1011') in the lower reaches of the Yangtze River. *Journal of Hazardous Materials* 181, 673-8.

Liao J, Lin X, Cao Z, Shi Y, Wong M, 2003. Interactions between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment. *Chemosphere* 50, 847-53.

Lin Q, Shen K-L, Zhao H-M, Li W-H, 2008. Growth response of *Zea mays* L. in pyrene-copper co-contaminated soil and the fate of pollutants. *Journal of Hazardous Materials* 150, 515-21.

Lopez De Andrade SA, Dias Da Silveira AP, Jorge RA, De Abreu MF, 2008. Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. *International Journal of Phytoremediation* 10, 1-13.

Lunáčková L, Masarovičová E, Kral'ova K, Streško V, 2003. Response of fast growing woody plants from family Salicaceae to cadmium treatment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 70, 0576-85.

Mackova M, Dowling DN, Macek T, 2006. *Phytoremediation and Rhizoremediation*. New York: Springer.

Marques APGC, Rangel AOSS, Castro PML, 2009. Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Phytoremediation as a Potentially Promising Clean-Up Technology. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 39, 622-54.

- Masse J, 2011. *Contenu total en éléments traces de sols forestiers du Québec méridional*. Montréal: Université de Montréal, Mémoire de maîtrise sous la supervision de F. Courchesne.
- Mcgrath SP, Zhao F-J, 2003. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology* 14, 277-82.
- Mcgrath SP, Zhao FJ, Lombi E, 2001. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant and Soil* 232, 207-14.
- MDDELCC, 2015. Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés. In: *Ministère du Développement durable, de l'Environnement, et de la Lutte contre les changements climatiques*. Québec: Gouvernement du Québec.
- Meagher RB, 2000. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Current Opinion in Plant Biology* 3, 153-62.
- Meers E, Vandecasteele B, Ruttens A, Vangronsveld J, Tack FMG, 2007. Potential of five willow species (*Salix* spp.) for phytoextraction of heavy metals. *Environmental and Experimental Botany* 60, 57-68.
- Meharg AA, 2003. The mechanistic basis of interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations. *Mycological Research* 107, 1253-65.
- Memon AR, Schroder P, 2009. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research* 16, 162-75.
- Mitter B, Brader G, Afzal M, *et al.*, 2013. Chapter Seven - Advances in Elucidating Beneficial Interactions Between Plants, Soil, and Bacteria. In: Donald LS, ed. *Advances in Agronomy*. Academic Press, 381-445. (Volume 121.)
- Mleczek M, Rissmann I, Rutkowski P, Kaczmarek Z, Golinski P, 2009. Accumulation of selected heavy metals by different genotypes of *Salix*. *Environmental and Experimental Botany* 66, 289-96.
- Mleczek M, Rutkowski P, Rissmann I, *et al.*, 2010. Biomass productivity and phytoremediation potential of *Salix alba* and *Salix viminalis*. *Biomass & Bioenergy* 34, 1410-8.
- Moreno-Jimenez E, Penalosa JM, Manzano R, Carpena-Ruiz RO, Gamarra R, Esteban E, 2009. Heavy metals distribution in soils surrounding an abandoned mine in NW Madrid (Spain) and their transference to wild flora. *Journal of Hazardous Materials* 162, 854-9.
- Mrnka L, Kuchar M, Cieslarova Z, *et al.*, 2012. Effects of Endo- and Ectomycorrhizal Fungi on Physiological Parameters and Heavy Metals Accumulation of Two Species from the Family Salicaceae. *Water Air and Soil Pollution* 223, 399-410.

Nolan AL, Lombi E, Mclaughlin MJ, 2003. Metal bioaccumulation and toxicity in soils—why bother with speciation? *Australian Journal of Chemistry* 56, 77-91.

Pilon-Smits E, 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* 56, 15-39.

Pulford ID, Watson C, 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environment International* 29, 529-40.

Robinson BH, Banuelos G, Conesa HM, Evangelou MWH, Schulin R, 2009. The Phytomanagement of Trace Elements in Soil. *Critical Reviews in Plant Sciences* 28, 240-66.

Rosselli W, Keller C, Boschi K, 2003. Phytoextraction capacity of trees growing on a metal contaminated soil. *Plant and soil* 256, 265-72.

Ruttens A, Boulet J, Weyens N, *et al.*, 2011. Short Rotation Coppice Culture of Willows and Poplars as Energy Crops on Metal Contaminated Agricultural Soils. *International journal of phytoremediation* 13, 194-207.

Sas-Nowosielska A, Kucharski R, Małkowski E, Pogrzeba M, Kuperberg JM, Kryński K, 2004. Phytoextraction crop disposal—an unsolved problem. *Environmental pollution* 128, 373-9.

Schmidt U, 2003. Enhancing phytoextraction: The effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. *Journal of Environmental Quality* 32, 1939-54.

Séguin V, Gagnon C, Courchesne F, 2004. Changes in water extractable metals, pH and organic carbon concentrations at the soil-root interface of forested soils. *Plant and soil* 260, 1-17.

Sell J, Kayser A, Schulin R, Brunner I, 2005. Contribution of ectomycorrhizal fungi to cadmium uptake of poplars and willows from a heavily polluted soil. *Plant and soil* 277, 245-53.

Senesil GS, Baldassarre G, Senesi N, Radina B, 1999. Trace element inputs into soils by anthropogenic activities and implications for human health. *Chemosphere* 39, 343-77.

Sessitsch A, Kuffner M, Kidd P, *et al.*, 2013. The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry* 60, 182-94.

Singer AC, Bell T, Heywood CA, Smith J, Thompson IP, 2007. Phytoremediation of mixed-contaminated soil using the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*: Evidence of histidine as a measure of phytoextractable nickel. *Environmental Pollution* 147, 74-82.

Singh A, Prasad SM, 2011. Reduction of heavy metal load in food chain: technology assessment. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology* 10, 199-214.

- Singh OV, Labana S, Pandey G, Budhiraja R, Jain RK, 2003. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology* 61, 405-12.
- Stevenson FJ, 1999. *Cycles of soil carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*. New York: J. Wiley.
- Susarla S, Medina VF, Mccutcheon SC, 2002. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering* 18, 647-58.
- Tsao DT, Banks MK, 2003. *Phytoremediation*. Berlin; New York: Springer.
- Ure AM, 1995. Methods of analysis for heavy metals in soils. In: B.J. A. *Heavy Metals in Soils*. (3rd Edition). Somerset: John Wiley and Sons, 339 p.
- Vamerali T, Bandiera M, Coletto L, Zanetti F, Dickinson NM, Mosca G, 2009. Phytoremediation trials on metal- and arsenic-contaminated pyrite wastes (Torviscosa, Italy). *Environmental Pollution* 157, 887-94.
- Van Nevel L, Mertens J, Oorts K, Verheyen K, 2007. Phytoextraction of metals from soils: How far from practice? *Environmental Pollution* 150, 34-40.
- Vandecasteele B, De Vos B, Tack FMG, 2002. Cadmium and Zinc uptake by volunteer willow species and elder rooting in polluted dredged sediment disposal sites. *Science of The Total Environment* 299, 191-205.
- Vandecasteele B, Meers E, Vervaeke P, De Vos B, Quataert P, Tack FMG, 2005. Growth and trace metal accumulation of two *Salix* clones on sediment-derived soils with increasing contamination levels. *Chemosphere* 58, 995-1002.
- Vervaeke P, Luysaert S, Mertens J, Meers E, Tack F, Lust N, 2003. Phytoremediation prospects of willow stands on contaminated sediment: a field trial. *Environmental Pollution* 126, 275-82.
- Violante A, Krishnamurti G, Pigna M, 2007. Factors affecting the sorption-desorption of trace elements in soil environments. *Biophysico Chemical Processes of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments*, 169-214.
- Vogel-Mikuš K, Pongrac P, Kump P, Nečemer M, Regvar M, 2006. Colonisation of a Zn, Cd and Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox* Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake. *Environmental Pollution* 139, 362-71.
- Vysloužilová M, Puschenreiter M, Wieshammer G, Wenzel W, 2006. Rhizosphere characteristics, heavy metal accumulation and growth performance of two willow (*Salix* × *rubens*) clones. *Plant Soil & Environment* 52, 353-61.

- Wang F, Lin X, Yin R, 2005. Heavy metal uptake by arbuscular mycorrhizas of *Elsholtzia splendens* and the potential for phytoremediation of contaminated soil. *Plant and Soil* 269, 225-32.
- Wang FY, Lin XG, Yin R, 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on heavy metal accumulation of maize grown in a naturally contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation* 9, 345-53.
- Weber JB, Wilkerson GG, Reinhardt CF, 2004. Calculating pesticide sorption coefficients (K_d) using selected soil properties. *Chemosphere* 55, 157-66.
- Weissenhorn I, Leyval C, Belgy G, Berthelin J, 1995. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. *Mycorrhiza* 5, 245-51.
- Wenzel W, 2009. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant and Soil* 321, 385-408.
- Whiting SN, De Souza MP, Terry N, 2001. Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*. *Environmental Science & Technology* 35, 3144-50.
- Wiegand J, Aschan G, Kraus U, Piontek J, Mederer J, 2009. Chemical Fractionation and Soil-to-Plant Transfer Characteristics of Heavy Metals in a Sludge Deposit Field of the River Ruhr, Germany. *Soil & Sediment Contamination* 18, 14-29.
- Wieshammer G, Unterbrunner R, García T, Zivkovic M, Puschenreiter M, Wenzel W, 2007. Phytoextraction of Cd and Zn from agricultural soils by *Salix* ssp. and intercropping of *Salix caprea* and *Arabidopsis halleri*. *Plant and Soil* 298, 255-64.
- Willey N, 2007. *Phytoremediation : methods and reviews*. Totowa, N.J.: Humana Press.
- Wilson B, Braithwaite A, Brian Pyatt F, 2005. An evaluation of procedures for the digestion of soils and vegetation from areas with metalliferous pollution. *Toxicological & Environmental Chemistry* 87, 335-44.
- Zhang H, Dang Z, Zheng LC, Yi XY, 2009. Remediation of soil co-contaminated with pyrene and cadmium by growing maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Environmental Science & Technology* 6, 249-58.
- Zhivotovsky OP, Kuzovkina YA, Schulthess CP, Morris T, Pettinelli D, 2011. Lead Uptake and Translocation by Willows in Pot and Field Experiments. *International Journal of phytoremediation* 13, 731-49.

