

Université de Montréal

**Réponse physiologique d'espèces ligneuses à un sol contaminé en PCP et ACC dans un
contexte de phytoremédiation**

**par
Philippe Heine**

**Institut de recherche en biologie végétale, Département de sciences biologiques, Faculté
des arts et des sciences**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en sciences biologiques

Août 2018

© Philippe Heine, 2018

À monsieur Gilles Isabelle

Résumé

Les sols contaminés représentent un enjeu environnemental mondial. La phytoremédiation qui est l'usage des plantes pour décontaminer les sols est une avenue prometteuse. Or, peu d'espèces indigènes ont été étudiées à ce jour. C'est pour quoi l'objectif de cette recherche fut d'établir le potentiel de neuf espèces ligneuses indigènes du nord-est de l'Amérique du Nord pour la phytoremédiation d'un substrat contaminé mixte en pentachlorophénol (PCP 38 ± 22 mg/kg) et en arséniate de cuivre chromaté (ACC; As : 360 ± 420 mg/kg, Cu : 195 ± 93 mg/kg, Cr 190 ± 24 mg/kg). Les espèces étaient *Acer saccharinum*, *Alnus crispa*, *Cornus stolonifera*, *Physocarpus opulifolius*, *Rhus typhina*, *Salix bebbiana*, *Salix eriocephala*, *Sambucus canadensis* et *Viburnum trilobum*. Une expérience en serre a été réalisée dont la moitié des individus étaient exposés à un substrat aride de type technosol (traitement non contaminé). Leur performance a été comparée avec des individus exposés au même substrat, mais contaminé en PCP et ACC de manière à recréer un déversement accidentel (traitement contaminé). La survie, la photosynthèse, la conductance, le rendement quantique maximum du PSII (Fv/Fm), la fréquence du développement racinaire et l'absorption d'As, de Cu et de Cr dans les tiges ont été mesurés. L'hypothèse selon laquelle le rang de performance des espèces du traitement non contaminé allait être inversé par rapport au rang du traitement contaminé a été vérifiée. Les résultats ont confirmé mon hypothèse, ce qui laisse croire que les traits favorisant la productivité en milieu non contaminé peuvent devenir un désavantage en milieu contaminé. Ainsi, le choix d'une plante phytoremédiatrice devrait reposer sur un niveau de performance intermédiaire observé en milieu non contaminé afin que celle-ci demeure productive en milieu contaminé, ce qui fut le cas de *Salix bebbiana*.

Mots clés

PCP, ACC, dioxines, furanes, phytoremédiation, espèces indigènes, contamination mixte, sols pollués

Abstract

Contaminated soils represent a worldwide environmental issue. Phytoremediation which is the use of plants to decontaminate soils is a promising technology. However, until now few native species were studied. This is why the objective of this research was to evaluate the potential of nine native tree and shrub species from northeastern America for the phytoremediation of mixed contaminated soil with pentachlorophenol (PCP 38 ± 22 mg/kg) and chromated copper arsenate (CCA; As: 360 ± 420 mg/kg, Cu: 195 ± 93 mg/kg, Cr 190 ± 24 mg/kg). The species were *Acer saccharinum*, *Alnus crispa*, *Cornus stolonifera*, *Physocarpus opulifolius*, *Rhus typhina*, *Salix bebbiana*, *Salix eriocephala*, *Sambucus canadensis* and *Viburnum trilobum*. Individuals were exposed to an arid technosol substrate (non-contaminated treatment) and their performance was compared with individuals exposed to the same substrate but contaminated with PCP and CCA in order to recreate an accidental spill (contaminated treatment). Survival, photosynthesis, maximum quantum yield of PSII (Fv/Fm), occurrence of root development, and uptake of As, Cu, and Cr in the stems were measured. The hypothesis stating that the species performance rank of the non-contaminated treatment would be reversed as compared to the contaminated treatment was tested. The results confirmed this hypothesis, indicating that the traits favoring productivity in a non-contaminated environment would become a disadvantage in a contaminated environment. Hence, the choice of a plant species for phytoremediation should reside on an intermediary level of performance observed in a non-contaminated environment in order for it to stay productive in a contaminated environment. This was the case for *Salix bebbiana*.

Keywords

PCP, CCA, dioxins, furans, phytoremediation, native species, mixed contamination, co-contamination

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	III
ABSTRACT	IV
TABLE DES MATIÈRES	V
LISTE DES TABLEAUX	VII
LISTE DES FIGURES	VIII
LISTE DES ABRÉVIATIONS	IX
ABBREVIATION LIST	X
REMERCIEMENTS	XI
CHAPITRE 1 INTRODUCTION	12
1.1 PRÉAMBULE	12
1.2 LA PHYTOREMÉDIATION	14
1.3 LES SOLS CONTAMINÉS ET LEUR CARACTÉRISATION	14
1.3.1 <i>La contamination mixte</i>	16
1.3.2 <i>La phytoremédiation des contaminants organiques et le PCP</i>	18
1.3.3 <i>La phytoremédiation des contaminants inorganiques et de l'ACC</i>	19
1.4 LA PHYTOREMÉDIATION	22
1.4.1 <i>Les stratégies évolutives</i>	22
1.4.2 <i>Le choix des espèces</i>	22
1.4.3 <i>Les espèces indigènes</i>	28
1.5 OBJECTIF	29
1.6 HYPOTHÈSES	29
1.7 APPROCHE EXPÉRIMENTALE	29
CHAPTER 2: PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF WOODY SPECIES EXPOSED TO A MIXED CONTAMINATION (PCP & CCA) IN A PHYTOREMEDIATION CONTEXT	31
2.1 ABSTRACT	31
2.2 INTRODUCTION	32
2.3 MATERIALS AND METHODS	34
2.3.1 <i>Experimental Conditions</i>	34
2.3.2 <i>Soil and Mesocosm Conception</i>	34
2.3.3 <i>Experimental Design and Sampling</i>	37
2.3.4 <i>Physiological Performance Ranking</i>	38
2.3.5 <i>Statistical Analysis</i>	39
2.4 RESULTS	40
2.4.1 <i>Survival</i>	40
2.4.2 <i>Photosynthesis, Conductance, and Fv/Fm</i>	41
2.4.3 <i>Root Growth Occurrence</i>	43
2.4.4 <i>Plant Trace Element Concentration</i>	43
2.4.5 <i>Physiological Performance Ranking</i>	44
2.5 DISCUSSION	45
2.6 CONCLUSION	49
2.7 ACKNOWLEDGEMENTS	49
CHAPITRE 3 CONCLUSION GÉNÉRALE	50
BIBLIOGRAPHIE	53
ANNEXE 1: DESIGN EXPÉRIMENTAL	I

ANNEXE 2: TEXTURE DU SUBSTRAT EXPÉRIMENTAL : SABLE LOAMEUX.....	II
ANNEXE 3: PROTOCOLE GRANULOMETRIQUE-HYDROMETRIQUE.....	III
ANNEXE 4: ENSEMBLE DES RESULTATS.....	IV
ANNEXE 5: GRAPHIQUE DU RANG DES ESPÈCES PAR TRAITEMENT	VI
ANNEXE 6: PHOTOS DE L'EXPÉRIMENTATION	VII

Liste des tableaux

Tableau 1.1: Seuils de contamination prévue selon la politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés pour les contaminants provenant de deux agents de préservation du bois (ACC et PCP) (Beaulieu, 2016).	12
Tableau 1.2: Résumé des articles portant sur la phytoremédiation par les neuf végétaux à l'étude.	26
Tableau 1.3: Revue de littérature portant sur la phytoremédiation de l'ACC et du PCP séparément ou mixés.	27
Table 2.1: Main substrate characteristics (5-10 cm).	35
Table 2.2: Soil contaminant concentration at 5 cm below the surface (n = combined 3 samples/column *3 columns).	36
Table 2.3: Occurrence of root growth in the non-contaminated and contaminated treatments (PCP and CCA) for nine native woody species (n = 4).	43

Liste des figures

Figure 1.1: Les trois classifications de contamination selon le type de mixité (inorganique et/ou organique) et le nombre de substances (simple = 1, 1 < co-contamination).....	16
Figure 1.2: Spéciation de l'arsénite (As(III)) et de l'arséniate (As(V)) en fonction du pH (Sø, 2011) .	21
Figure 1.3: Compromis entre la résistance au stress et la performance tel que montré par le rang de performance de six espèces lorsqu'exposées à un environnement stressant (Hoffmann et Parsons, 1991).	23
Figure 1.4: Impact de la perturbation des habitats sur la diversité des espèces indigènes et exotiques. « Dans les premiers stades d'invasions, l'introduction d'espèces exotiques combinée à des perturbations humaines exacerbe la courbe IDH et l'augmentation de la richesse spécifique dans les sites hautement perturbés; cela ne réduit pas la richesse des espèces indigènes. Les premiers stades d'envahissement se concentrent sur la colonisation et ils incluent l'introduction et la naturalisation (Richardson et al. 2000). La zone grise indique la diversité spécifique préinvasion; les lignes indiquent la diversité post-invasion et post-perturbation anthropogénique: la ligne noire indique la diversité de la communauté; la ligne pointillée indique la diversité des espèces exotiques; la ligne grise indique la diversité des espèces indigènes. » Catford et al. (2012).	28
Figure 2.1: Experimental unit.	35
Figure 2.2: Mean survival in days (N = 4) for nine woody species growing in a non-contaminated and a contaminated mesocosm. Values are means; bars indicate ± 1 SD	40
Figure 2.3: Photosynthesis rate, conductance, and maximum quantum yield of PSII (Fv/Fm) for nine woody species (<i>Alnus crispa</i> , <i>Acer saccharinum</i> , <i>Cornus stolonifera</i> , <i>Physocarpus opulifolius</i> , <i>Rhus typhina</i> , <i>Salix bebbiana</i> , <i>Sambucus canadensis</i> , <i>Salix eriocephala</i> and <i>Viburnum trilobum</i>) growing in non-contaminated and contaminated columns. Different letters identify statistical differences (Tuckey, $P < 0.05$). Bars represent ± 1 SD.	42
Figure 2.4: Stem trace element concentrations (Arsenic, Chromium, and Copper) in 7 native woody species (<i>Alnus crispa</i> , <i>Acer saccharinum</i> , <i>Cornus stolonifera</i> , <i>Rhus typhina</i> , <i>Salix bebbiana</i> , <i>Salix eriocephala</i> and <i>Viburnum trilobum</i>) exposed during 55 days to a mixed contaminated substrate (PCP and CCA). Different letters identify statistical differences (Tuckey, $P < 0.05$). Error bars represent ± 1 SD.....	44
Figure 2.5 Relative physiological performance correlation based on survival, photosynthesis and root growth occurrence in the non-contaminated and contaminated treatment (Spearman's correlation -0.68, $P = 0.042$).....	45

Liste des abréviations

ACC	Arséniate de cuivre chromaté
Ag	Argent
Al	Aluminium
As	Arsenic
AsIII	Arsénite
AsV	Arséniate
BPC	Bisphényles polychlorés
Cd	Cadmium
Cl	Chlore
CN	Cyanure
Co	Cobalt
Cu	Cuivre
Cr	Chrome
ET	Éléments traces
Fe	Fer
Fm	Fluorescence maximale
Fv	Fluorescence variable
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
Hg	Mercure
K	Potassium
kg	Kilogramme
mg	Milligramme
Mn	Manganèse
Mo	Molybdène
N	Azote
Ni	Nickel
P	Phosphore
PCP	Pentachlorophénol
Pb	Plomb
pg	Picogramme
PII	Photosystème II
PO ₄ ³⁻	Phosphate
PVC	Polychlorure de vinyle
S	Soufre
Se	Sélénium
μs	Micro Siemens
Zn	Zinc

Abbreviation list

ANOVA	Analysis of variance
As	Arsenic
°C	Celsius
C	Carbon
CCA	Chromated copper arsenate
cm	centimeter
Cu	Copper
Cr	Chromium
Fm	Maximum fluorescence
Fv	Variable fluorescence
g	Gram
GLM	Generalized linear model
h	Hour
HDPE	High-density polyethylene
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
kg	Kilogram
L	Liter
m	Minute
mg	Milligram
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimole
N	Nitrogen
ODC	Organic dissolved carbon
PCP	Pentachlorophenol
PVC	Polyvinyl chloride
ROS	Reactive oxygen species
s	Second
SE	Standard error
TC	Total carbon
TE	Trace element
TIC	Total inorganic carbon
TOC	Total organic carbon
TKN	Total Kjeldahl nitrogen
μmol	Micromoles

Remerciements

Je tiens à remercier mon directeur Michel Labrecque pour son soutien, son oreille attentive et ses précieux encouragements. Merci à Jacques Brisson, mon codirecteur, de m'avoir accueilli au sein de son labo pendant ces deux belles années. Un grand merci aussi pour son support, et son aide constante. Merci à Gérald Zagury, mon codirecteur pour ses encouragements et ses judicieux conseils. Merci au financement de la chaire de recherche industrielle CRSNG/Hydro-Québec en phytotechnologie grâce à laquelle cette recherche fut possible .

Un énorme merci à Cédric Frenette Dussault pour son aide précieuse et pour m'avoir toujours gardé une porte ouverte afin de répondre à toutes mes questions. Merci également à Ahmed Jerbi pour son écoute, ses judicieux conseils et ses encouragements.

Un immense merci à tous ceux et celles qui m'ont aidé de près ou de loin, sans qui la réalisation de mon expérience aurait été impossible. Merci à Patrick Boivin, Benoit-St-Georges, Vanessa Grenier, Hamida Kadri, Esther Archambault, Chloé Frédette, Vlad Parasquive, Daniel Auger, Jacques Baril et Adrien Frémont.

Je remercie tout spécialement madame Muriel Cronier ainsi que monsieur Pierre Rémillard de l'entreprise Stella Jones de m'avoir gracieusement offert les produits chimiques indispensables à la réalisation de mon projet.

Une maîtrise est un accomplissement majeur dans une vie; elle est remplie de hauts et de bas. Grâce à toutes ces personnes formidables que j'ai eu la chance de côtoyer durant ces deux belles années, je suis sorti grandi de cette expérience; c'est pourquoi je dis à tous merci beaucoup!

Chapitre 1 Introduction

1.1 Préambule

Les sols à contamination mixte sont une problématique majeure répandue mondialement. Au Canada seulement, on estime que la décontamination d'un peu plus de 2200 sites recensés coûterait plus de 4,3 milliards selon un rapport datant du 31 mars 2011 (Oag-bvg, 2012). Une contamination mixte se définit par la présence de contaminants de nature différente (organique et inorganique) dans la même matrice. Un exemple de contamination mixte se trouve dans les cours d'entreposages de poteaux de bois, qui historiquement étaient traités au pentachlorophénol (PCP) et qui sont maintenant traités à l'arséniate de cuivre chromaté (ACC). Ces produits ont pour objectif de protéger le bois de la pourriture. À cause de la lixiviation par la pluie, les sols sous-jacents sont maintenant autant contaminés en ACC qu'en PCP. Les contaminants les plus problématiques concernant ces sols sont les produits de dégradation du PCP que sont les dioxines et les furanes puisqu'elles dépassent souvent les normes environnementales (Tableau 1.1). Le danger de ces sites doit être sérieusement pris en compte.

Tableau 1.1: Seuils de contamination prévue selon la politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés pour les contaminants provenant de deux agents de préservation du bois (ACC et PCP) (Beaulieu, 2016).

Contaminants	Unité	Critères		
		A	B	C
Arsenic	(As) mg/kg	6	30	50
Cuivre	(Cu) mg/kg	50	100	500
Chrome	(Cr) mg/kg	100	250	800
Pentachlorophénol (PCP)	mg/kg	0.1	0.5	5
Dioxines/furanes	pg/g	1.8	15	750

À ce jour, la seule méthode de remédiation économiquement viable est l'excavation des premiers centimètres, qui sont les plus contaminés, afin de respecter la législation environnementale. Bien que rapide et efficace, cette technique est extrêmement coûteuse. Un autre désavantage de cette méthode est qu'elle ne fait que déplacer le problème. Le sol excavé est acheminé vers un site d'enfouissement souvent situé à des dizaines de kilomètres du site d'origine. Considérant les avantages et les inconvénients de la décontamination conventionnelle, il est judicieux de mettre au point des solutions plus économiques et respectueuses de l'environnement.

La phytoremédiation est sans doute une approche alternative des plus abordables et permettrait de véritablement décontaminer un sol de manière *in situ*. L'objectif de mon projet de recherche était d'affiner la sélection des espèces utilisées en phytoremédiation en explorant la capacité de certains arbustes indigènes à tolérer et à croître dans un substrat de type technosol fortement contaminé par un déversement simulé de PCP et d'ACC. À la lumière des résultats de cette expérience, je propose l'utilisation des espèces arbustives les plus appropriées pour leur capacité de phytoremédiation à grande échelle. Mon projet s'intègre dans le cadre plus large de la Chaire de recherche industrielle CRSNG/Hydro-Québec en phytotechnologie¹.

À la suite de ce premier chapitre, je discuterai plus en détail de la problématique des sols contaminés et de la phytoremédiation, puis j'y exposerai mes objectifs et hypothèses de recherche. Le deuxième chapitre traitera de l'expérimentation. J'y présenterai la méthodologie, les résultats et la l'interprétation de ces résultats. Enfin, le troisième chapitre fera guise de conclusion et fera un retour sur les objectifs et les hypothèses à l'aide des résultats saillants, en plus de tracer les perspectives d'avenir quant à l'usage d'arbres et arbustes indigènes pour la phytoremédiation.

¹ <http://chairephytotechnologie.com/>

1.2 La phytoremédiation

La phytoremédiation est l'usage de plantes pour traiter des sols contaminés. Il existe différents processus impliqués dans la phytoremédiation. D'abord, la phytoextraction est le processus par lequel les polluants sont absorbés dans les tissus des plantes. Quand un polluant est absorbé par les racines et est acheminé dans les parties aériennes, on parle alors de translocation (Ali et al., 2013). Ce processus est intéressant, car il permet de réduire la charge polluante d'un site en récoltant la biomasse aérienne et en la traitant de façon sécuritaire dans les installations destinées à cet effet. Ensuite, la phytostabilisation consiste à immobiliser les polluants localement pour éviter qu'ils ne se répandent en profondeur ou latéralement, car ils risqueraient de contaminer la nappe phréatique (Ali et al., 2013). Enfin, la phytodégradation est un processus par lequel les contaminants organiques sont métabolisés par les microorganismes en éléments plus simples et moins toxiques.

1.3 Les sols contaminés et leur caractérisation

Un contaminant se définit comme une substance non désirée dans un substrat (air, eau, sol). Un contaminant peut être qualifié de polluant à partir du moment où une substance devient toxique pour un organisme d'intérêt ou lorsqu'il est présent à une concentration supérieure à la réglementation. Ici, j'utiliserai principalement le terme contaminant à cause de sa définition plus inclusive.

Selon la classification de la base de référence mondiale sur les sols (FAO et ITPS, 2015), les sols contaminés entrent dans la catégorie des technosols. Ils se définissent par la présence de résidus issus d'une activité industrielle. Il peut s'agir de sols recouverts d'une surface imperméable facilitant le déplacement des véhicules (asphalte ou béton) ou d'une géomembrane faite en polychlorure de vinyle (PVC) ou autres matériaux. Les technosols peuvent contenir des artefacts provenant de l'excavation des

sols miniers, de déchets organiques, de la poussière industrielle ou toute autre substance synthétique (pétrole, pesticides, etc.). Ainsi, ce sont généralement des sols toxiques qui doivent être manipulés avec prudence (FAO, 2014). Dans le cadre de ma recherche, j'ai recréé un technosol imitant le sol d'une friche industrielle qui se caractérise écologiquement par sa nature alcaline, saline, fortement compactée et contenant très peu de matière organique et de nutriments. La nature même de ce sol constitue un environnement stressant pour l'établissement des plantes. C'est pourquoi j'ai d'abord voulu étudier la réponse physiologique des plantes dans ce substrat non contaminé. Simultanément, j'ai comparé la réponse des mêmes espèces dans un technosol parfaitement identique, à l'exception de la contamination, afin d'observer le potentiel de ces espèces pour la phytoremédiation.

Au Québec, le ministère de l'Environnement a établi des seuils de tolérance au-delà desquels la décontamination est exigée, telle qu'établie en 1998 par la politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés (Beaulieu, 2016). Il existe trois seuils selon l'usage du terrain. Le critère A s'applique aux surfaces agricoles, le critère B aux terrains résidentiels, récréatifs, institutionnels et commerciaux s'ils sont situés en zone résidentielle et le critère C aux terrains industriels ou commerciaux s'ils sont situés en zone non résidentielle (Beaulieu, 2016). Le tableau 1.1 présente les différents seuils pour les contaminants concernés par ma recherche.

La nomenclature des types de contamination se définit selon la nature des contaminants et le nombre de substances différentes. Un contaminant peut être de type inorganique ou organique. Si le substrat contient uniquement un des deux types, la contamination sera alors qualifiée de non mixte. Une contamination non mixte est qualifiée de simple s'il y a présence d'une seule substance ou de co-contamination s'il y a présence de plus d'une substance du même type. Enfin, par définition, une contamination mixte est forcément une co-contamination, car elle contient au moins deux substances de chacun des deux types

(Figure 1.1). Dans le cadre de cette étude, je me suis intéressé au type le plus complexe, c'est-à-dire la contamination mixte.

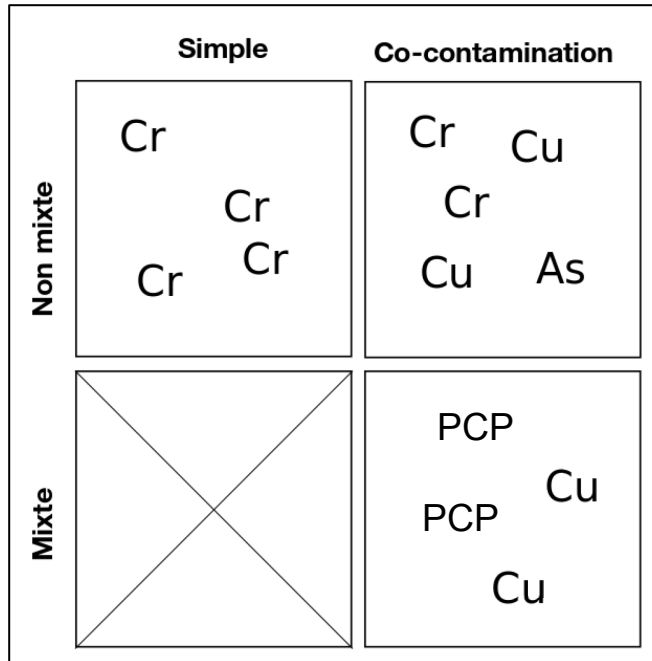


Figure 1.1: Les trois classifications de contamination selon le type de mixité (inorganique et/ou organique) et le nombre de substances (simple = 1, 1 < co-contamination).

1.3.1 La contamination mixte

L'enjeu majeur concernant les sols contaminés est le danger qu'ils représentent pour la santé humaine et l'intégrité des écosystèmes. C'est pourquoi tout projet de décontamination commence par une phase de caractérisation où l'on identifie et quantifie les contaminants. Il faut aussi prendre en compte la biodisponibilité et l'interaction des contaminants, puisqu'ils ont une influence importante sur leur toxicité.

La toxicité des substances chimiques est bien connue lorsque celles-ci sont considérées individuellement. Par contre, l'interaction entre les substances organiques et inorganiques produit des effets importants à considérer. Par exemple, la présence de contaminants organiques peut modifier la biodisponibilité des

contaminants inorganiques (Chen et Aitken, 1999; Kuo et Genthner, 1996). Ainsi, même si la concentration en contaminants inorganiques est faible, la mixité de la contamination peut augmenter les risques pour la santé humaine et l'environnement.

Les bactéries et les champignons mycorhiziens sont essentiels à la dégradation des contaminants organiques (Chaudry et al., 2005). Or, il a été démontré que la présence de contaminants inorganiques réduit la diversité et l'abondance des communautés microbiennes, ce qui diminue le taux de dégradation des contaminants organiques (Dobler et al., 2000; Frostegård et al., 1993; Gray et Smith, 2005; Sandrin et al., 2000). Zhu et al. (2001) ont démontré qu'une suspension d'*Escherichia coli* exposée à une solution faiblement concentrée en PCP et en Cu limitait radicalement leur taux de croissance et leur taux de survie comparé à une exposition simple aux contaminants séparément. Cela indique l'existence d'un effet synergétique phytotoxique. La contamination mixte peut aussi avoir un effet néfaste sur la croissance des plantes, tel qu'observé par Lin et al. (2006) sur *Raphanus sativus* et *Lolium perenne* lorsqu'elles sont exposées à une co-contamination en PCP et en Cu.

Nous savons que la diversité biologique d'une communauté influence les fonctions écologiques du système et favorise sa stabilité (Batty et Dolan, 2013). Par conséquent, on peut supposer qu'un sol avec une communauté microbienne diversifiée permette une meilleure dégradation d'une plus grande diversité de contaminants. Wick et al. (2007) soutiennent en effet qu'une riche diversité de bactéries et de champignons mycorhiziens favorise la dégradation d'une grande diversité d'hydrocarbures pétroliers. Puisque les terrains contaminés sont microbiologiquement pauvres, il est judicieux de végétaliser un site dégradé afin de favoriser un milieu favorable aux microorganismes (Batty et Dolan, 2013).

1.3.2 La phytoremédiation des contaminants organiques et le PCP

Un contaminant organique est toute molécule exogène à base de carbone. Parmi tous les contaminants organiques existants, on retrouve fréquemment dans les sols des hydrocarbures, des pesticides, des BPC et des molécules organiques halogénées comme le PCP.

La remédiation des contaminants organiques se fait principalement par l'action de dégradation des contaminants et par les microorganismes de la rhizosphère en les métabolisant en molécules organiques non toxiques, tels le CO_2 , le NO_3 , le Cl et le NH_4 (Meagher, 2000). La présence de plantes facilite l'établissement des microorganismes. Ainsi, la phytodégradation se réalise par l'union des plantes hôtes avec les microorganismes du sol. Les contaminants organiques sont plus ou moins facilement assimilés par les microorganismes. Le PCP en particulier est difficile à dégrader, car il est extrêmement hydrophobe. De ce fait, il se lie fortement aux particules du sol et il devient inaccessible aux microorganismes (Cofield et al., 2008; Ferreira, 2001; Guthrie-Nichols et al., 2003; Parrish et al., 2005).

L'absorption des substances du sol se fait par transport actif ou passif (Batty et Dolan, 2013). Or, les plantes n'ont pas développé de transporteurs actifs pour les molécules artificielles. C'est pourquoi la plupart des contaminants organiques ne peuvent pas être absorbés par les plantes et être acheminés vers les tiges et les feuilles (Widdel et Rabus, 2001). S'ils entrent dans les tissus, ils seront limités aux racines et liés aux tissus lipidiques riches en hémicellulose de la paroi cellulaire et de la double couche de phospholipide des membranes cellulaires (Batty et Dolan, 2013). Le PCP a un coefficient de partition octanol eau ($\log K_{ow}$) de 5.12, ce qui est largement hydrophobe (le seuil étant de < 0.5) pour pénétrer dans la membrane phospholipidique (Cherian et Oliveira, 2005; Pilon-Smits, 2005).

Le PCP est un composé organochloré qui sert comme agent de préservation du bois. C'est pour cette raison qu'il est fréquemment retrouvé dans les sols des sites d'entreposage du bois tels que les poteaux électriques (Khodadoust et al., 1999). Le PCP est considéré comme un polluant préoccupant par l'Agence de protection environnementale des États-Unis (Dams et al., 2007). C'est pourquoi le PCP fut remplacé par l'ACC depuis quelques années.

Le PCP se dégrade naturellement en sous-produits hautement toxiques et cancérigènes que sont les dioxines et les furanes (INERIS, 2011). Nous retrouvons aujourd'hui des concentrations préoccupantes de ces polluants dans toutes les sphères de la biosphère (Khodadoust et al., 1999). D'ailleurs, dans le cas d'une contamination mixte en ACC et PCP, les dioxines et les furanes sont les premières substances à dépasser les seuils environnementaux.

1.3.3 La phytoremédiation des contaminants inorganiques et de l'ACC

La contamination inorganique regroupe tous les métaux et les métalloïdes du tableau périodique. On peut aussi les qualifier d'éléments traces (ET). Ces éléments ne peuvent pas être dégradés en substances plus simples; ils peuvent seulement être transportés, transformés sous une forme moins toxique ou stabilisés dans la rhizosphère. Ainsi, nous utilisons la capacité des plantes à absorber et accumuler les ET (Batty et Dolan, 2013). Les ET peuvent se présenter sous différentes espèces chimiques (Allen et al., 1980). La spéciation influence la solubilité et l'association avec la matrice solide (Campbell et Nordstrom, 2014). Étant donné que l'absorption des ET se fait uniquement lorsqu'ils sont dissouts dans la phase liquide, il est primordial de connaître la spéciation. D'ailleurs, leur toxicité est grandement influencée par les caractéristiques physiques de leur milieu telles que le pH, l'état d'oxydo-réduction et la matière organique (Campbell et Nordstrom, 2014; Sørensen, 2011), ainsi que par l'activité biologique en modifiant la composition chimique du sol (Ernst, 1996). Par exemple, l'exsudation de carbone organique dissout diminuerait le pH, ce qui augmenterait la biodisponibilité de l'As (Gonzaga et al., 2009).

L'ACC de type C sans additif, est le type le plus couramment utilisé. Il est constitué de 34% d'arsenic (As_2O_5), de 18.5% de cuivre (CuO) et de 47.7% de chrome (CrO_3) (Warner et Solomon, 1990). L'ACC est un agent de préservation du bois dont la solution aqueuse (2%) est appliquée à haute pression. Les principaux agents actifs sont le Cu et l'As. Le Cr sert d'agent liant. Malgré cela, avec le temps, l'ACC finit par quitter le bois par lessivage et contaminer le sol à proximité. L'ACC a le double avantage d'offrir une protection de plus longue durée en plus d'être moins nocif pour l'environnement et la santé publique (Hydro-Québec, 2010). Toutefois, ceci ne signifie pas qu'il est inoffensif. En effet, nous nous préoccupons de plus en plus du lessivage de l'As dans les sols et la nappe phréatique, et de ses conséquences sur l'environnement (Cao et al., 2003; Zagury et al., 2003).

L'As peut se retrouver sous différentes formes moléculaires organiques et ioniques (Dobran et Zagury, 2006). Dans l'eau et le sol, l'As peut se trouver sous quatre formes d'oxydation: $As(-III)$, $As(0)$, $As(+III)$, $As(+V)$ (Abbas et al., 2018). L'arsénite ($As(III)$) est la forme la plus mobile et la plus toxiques (Dobran et Zagury, 2006). L' $As(III)$ prévaut en condition de réduction et l' $As(V)$ prévaut en condition d'oxydation. La forme ionique de l'As est aussi influencée par le pH (Figure 1.2). L'As n'est pas un micronutriment, donc il ne se retrouve pas normalement dans les tissus biologiques. Par contre, en milieu contaminé, l' $As(V)$ sera absorbé par les racines, car sa configuration est semblable à celle du phosphate (PO_4^{-3}) (Niazi et al., 2017). Sa présence peut causer un ralentissement de la croissance et de la productivité, principalement en créant des espèces réactives de l'oxygène telles que l'ion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Abbas et al., 2018).

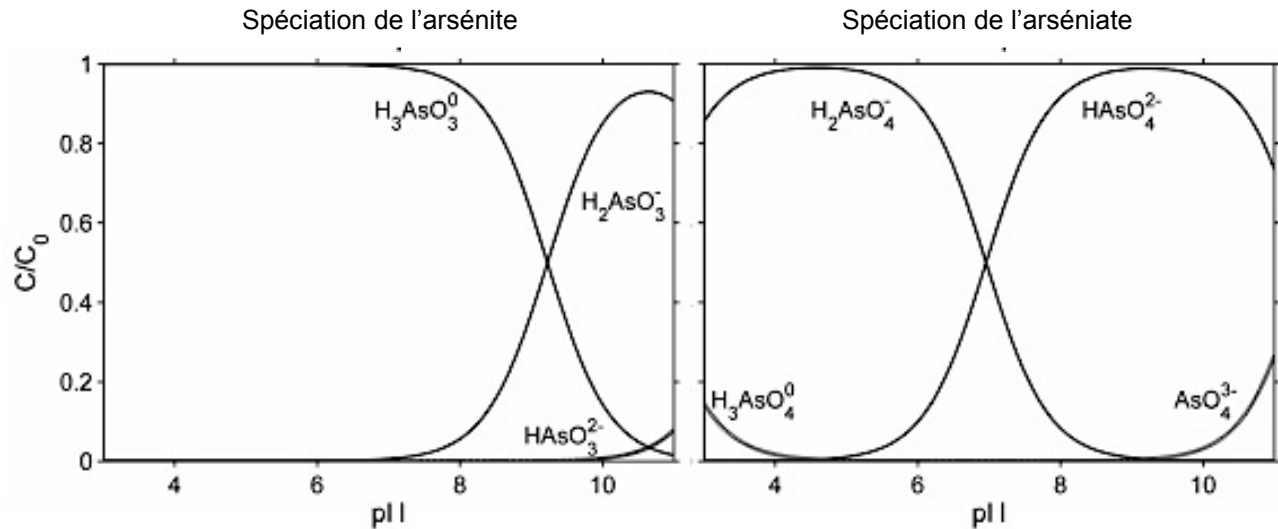


Figure 1.2: Spéciation de l'arsénite (As(III)) et de l'arséniate (As(V)) en fonction du pH (Sø, 2011).

Le Cu est un micronutriment essentiel que l'on retrouve particulièrement dans les chloroplastes des angiospermes (Maksymiec, 1998). Il est aussi impliqué au niveau de la plastocyanine dans la chaîne de transport des électrons (Maksymiec, 1998). Par contre, un excès peut causer une inhibition de la performance du photosystème II en entrant en compétition avec le fer (Pätsikkä et al., 2002).

Le Cr se retrouve sous deux formes: le Cr trivalent (CrIII) et le Cr hexavalent (CrVI). Le CrIII est un micronutriment que l'on retrouve normalement dans les systèmes biologiques. Il est essentiel à certains processus métaboliques (Gomez et Callao, 2006). Le Cr(VI), par ailleurs, n'est pas compatible avec les systèmes biologiques. C'est pourquoi il est très toxique et même cancérigène (Gomez et Callao, 2006). Le Cr(VI) est exclusivement d'origine anthropique, provenant des activités minières (Gomez et Callao, 2006). Le Cr a des effets toxiques en créant des dommages au système photosynthétique et au métabolisme (Shanker et al., 2005).

1.4 La phytoremédiation

1.4.1 Les stratégies évolutives

Les végétaux peuvent avoir différents modes de réactions en présence d'ET, qui varient selon l'espèce considérée et les conditions du milieu. Ainsi, certaines plantes sont capables de croître sur un sol pollué, soit parce qu'elles peuvent limiter l'absorption suivant l'immobilisation des ET dans la rhizosphère, ou par la complexation avec les exsudats racinaires ou autres altérations chimiques de la rhizosphère tel le pH (Dalvi et Bhalerao, 2013). Des plantes caractérisées par leur capacité d'exclure des ET ne peuvent pas contribuer à la décontamination d'un sol, mais peuvent tout de même être utilisées pour la stabilisation. D'autres végétaux peuvent absorber et transloquer les ET dans les mêmes proportions que celles retrouvées dans le sol. Ces plantes peuvent être utilisées pour la remédiation surtout si elles se caractérisent par une forte production de biomasse aérienne (McCutcheon et Schnoor, 2003).

1.4.2 Le choix des espèces

On peut distinguer trois stratégies d'histoire de vie chez les plantes (Grime, 1977). Il y a les plantes compétitrices qui ont la capacité de croître rapidement et de coloniser un nouvel habitat avant les autres types de plantes. Il y a les plantes résistantes au stress qui croient plus lentement, mais qui sont capables de vivre dans un habitat où les ressources sont limitées tels la lumière, l'eau et les nutriments. Enfin, il y a les plantes rudérales qui sont capables de résister à une perte importante de biomasse que ce soit par broutage, par maladie, ou par toute intervention humaine qu'elle soit de nature mécanique ou chimique. Ainsi, dans un milieu non contaminé on s'attendrait à ce que les plantes compétitrices soient les plus productives. Alors que dans un milieu contaminé, ce seraient les espèces tolérantes au stress.

On peut donc affirmer qu'il y a une corrélation négative entre la productivité des espèces compétitrices et celles résistantes au stress le long d'un gradient de stress. Cela s'expliquerait, entre autre, par le fait que les gènes de résistance à la pollution sont associés avec un coût sur la performance dans un environnement non stressant (Figure 1.3) (McCutcheon et Schnoor, 2003). Une des raisons à cela serait que les mécanismes qui préviennent l'absorption des éléments toxiques préviennent aussi l'absorption des nutriments (Fitter et Hay, 2012). Réciproquement, une espèce de saule hybride à croissance rapide (*S. schwerinii* E. Wolf. × *S. viminalis* L. ("Tora")) performant mieux en condition normale sera moins performante qu'une espèce sauvage (*S. viminalis* L. cueillie en Suède en (L78183)) en présence de stress hydrique par exemple (Weih, 2001).

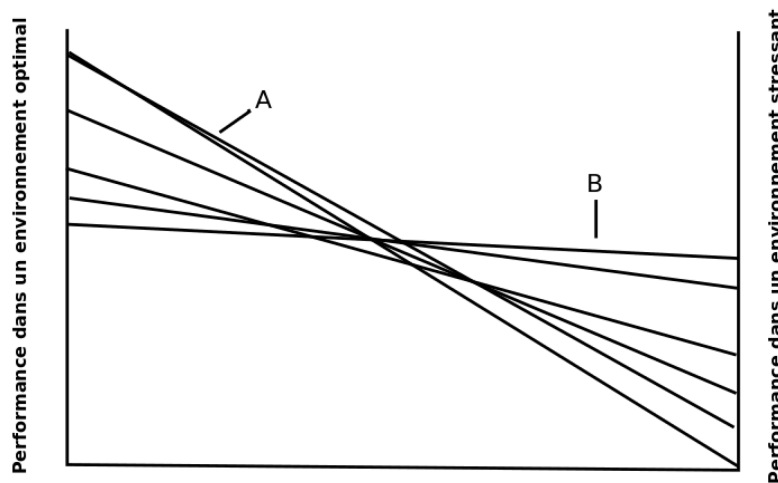


Figure 1.3: Compromis entre la résistance au stress et la performance tel que montré par le rang de performance de six espèces lorsqu'exposées à un environnement stressant (Hoffmann et Parsons, 1991).

Cinq critères ont été proposés par Punshon (1996) pour qu'une plante soit utile pour la phytoextraction. Il s'agit de la capacité à (i) croître sur un sol pauvre, (ii) développer un système racinaire profond, (iii) croître rapidement, (iv) résister aux ET et (v) apporter un bénéfice économique secondaire (*e.g.* chimie

verte, produits biosourcés). Les espèces ligneuses accumulatrices à croissance rapide sont celles qui répondent le mieux à ces critères. De toutes les espèces accumulatrices à croissance rapide, on compte plusieurs plantes ligneuses telles que celles appartenant aux genres *Alnus*, *Betula*, *Populus* et *Salix* (French et al., 2006; Hammer et al., 2003; Pulford et Watson, 2003). Les *Salix* et *Populus* (famille des Salicacées) sont fréquemment étudiés, car ils sont reconnus pour être résistants à une grande variété de conditions environnementales, ils s'établissent facilement et rapidement, développent un grand réseau racinaire, sont pérennes et répondent bien au recépage.

Les Salicacées regroupent des espèces fréquemment utilisées en phytoremédiation. Il a été démontré que celles-ci ont plusieurs des caractéristiques mentionnées plus haut. Par contre, la plupart des saules utilisés ne sont pas indigènes au nord-est de l'Amérique du Nord. D'autres espèces intéressantes ligneuses et indigènes au Québec pourraient être utilisées pour la phytoremédiation.

Le temps nécessaire pour décontaminer un sol par l'utilisation de plantes constitue également un enjeu à considérer en phytoremédiation. Or, cela est fonction de la quantité absolue de polluants absorbés dans les tissus végétaux. Ainsi, la croissance rapide et la production d'une grande biomasse rendent les espèces ligneuses plus efficaces que les herbacées. En fait, beaucoup d'attention a été portée sur l'usage des herbacées hyperaccumulatrices. Une liste de ces végétaux est compilée dans la monographie de Anjum et al. (2012) pour les ET suivants : Cd, Pb, As, Cu, Zn, Ni, Cr, Hg, Co, Mn, Mo et Al. La revue de littérature de Chaney et al. (2007) présente l'intérêt des espèces hyperaccumulatrices pour une utilisation commerciale, notamment pour le Pb, le Ni, le Cd et le Se.

Le désavantage des espèces herbacées hyperaccumulatrices est qu'elles produisent généralement peu de biomasse, d'où l'intérêt pour les espèces ligneuses à croissance rapide. La production importante de biomasse combinée à la croissance rapide leur permet d'accumuler des quantités appréciables d'ET. Or,

la plupart de ces études ont porté sur des Salicacées, soit les saules et les peupliers (Di Lonardo et al., 2011; Guidi et al., 2012; Hirsh et al., 2003; Marmiroli et al., 2011; Mosseler et al., 2014; Pitre et al., 2010; Ucisik et Trapp, 2008). Certaines études impliquaient des espèces indigènes au Québec dont *Populus deltoides*, *Salix eriocephala* et *Salix bebbiana* (Beauchamp et al., 2018; Mansfield et al., 2014; Pajević et al., 2009) et d'autres sur des espèces exotiques telles que *Populus alba*, *Salix miyabeana* et *Salix viminalis* (Di Lonardo et al., 2011; Licinio, 2017; Rosselli et al., 2003). Quelques études ont porté sur d'autres espèces ligneuses que les Salicacées, dont *Acer saccharinum* (Marmiroli et al., 1999; Siwik et al., 2010), *Alnus crispa* (Fessenden et Sutherland, 1979; Nguyen et al., 2017), *Cornus stolonifera* (Heale et Ormrod, 1982; Nguyen et al., 2017) et *Rhus typhina* (Lu et al., 2010; Shufeng et Yujian, 2012; Xin-Chun, 2010) (Tableau 1.2). Toutes les études citées à propos d'*Acer saccharinum*, *Alnus crispa*, *Cornus stolonifera* et *Rhus typhina* portaient uniquement sur les métaux et métalloïdes, mais jamais sur des polluants organiques et jamais spécifiquement sur l'ACC. Il y a cependant de nombreuses études qui ont été réalisées en utilisant des plantes herbacées pour la décontamination de sols pollués en ACC de même que par le PCP (Tableau 1.3). Plus rares sont les études qui ont impliqué des espèces ligneuses pour ce type de polluants (Mills et al., 2006) (Tableau 1.3).

Bien que quelques études portent sur la phytoremédiation d'un sol pollué en pentachlorophénol mélangé à un polluant inorganique (Hechmi et al., 2014a; Hechmi et al., 2013; Lin et al., 2006), seulement une étude, à notre connaissance, porte sur la phytoremédiation d'un sol à contamination mixte en PCP et ACC par une espèce de saule et une espèce de peuplier (Mills et al., 2006) (Tableau 1.2).

Tableau 1.2: Résumé des articles portant sur la phytoremédiation par les neuf végétaux à l'étude.

Espèces	Auteurs	Inorganique	Organique
<i>Alnus crispa</i>	(Fessenden et Sutherland, 1979)	Cu	NA
	(Nguyen et al., 2017)	Ag, Cu, Pb, Zn, Ni, Se	NA
<i>Acer saccharinum</i>	(Marmioli et al., 1999)	Cr	NA
	(Nkongolo et al., 2017)	Cu, Fe, Mn, Ni, Mn	NA
	(Siwik et al., 2010)	Hg	NA
<i>Cornus stolonifera</i>	(Heale et Ormrod, 1982)	Ni, Cu	NA
	(Nguyen et al., 2017)	Ag, Cu, Pb, Zn, Ni, Se	NA
<i>Physocarpus opulifolius</i>	(Mol, 2016)	As, Mo, Sb	NA
	(Gorelova et Frontasyeva, 2017)	Mn, Fe, Ni, Zn, Cu, Cd, Pb	NA
<i>Rhus typhina</i>	(Lu et al., 2010)	Pb	NA
	(Shufeng et Yujian, 2012; Xin-Chun, 2010)	Pb, Zi	NA
		Cd	NA
<i>Salix bebbiana</i>	(Mansfield et al., 2014)	Cu, Zn, Pb	NA
	(Meiman et al., 2012)	Cd, Cu, Pb, Zn	NA
<i>Sambucus canadensis</i>	NA	NA	NA
<i>Salix eriocephala</i>	(Beauchamp et al., 2018)	Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn	NA
	(Ebbs et al., 2003)	CN	NA
	(Grenier et al., 2015)	Cd, Cu	HAP,BPC,C10-C50
	(Mosseler et Major, 2017)	Fe, Al, S	NA
	(Puckett et al., 2012)	As, P	NA
<i>Viburnum trilobum</i>	NA	NA	NA

Tableau 1.3: Revue de littérature portant sur la phytoremédiation de l'ACC et du PCP séparément ou mixés.

Espèces	Études	Type	Location	Contaminant
<i>Zea mays</i>	(Ikhuoria et al., 2010)	Pot		ACC
<i>Pteris vittata</i>	(Kertulis-Tartar et al., 2006)	Terrain	Chine	ACC
<i>Viola mandshurica</i>	(Lee, El-azeem, Kim, Lim et Lee, 2011)	Terrain	Corée	ACC
<i>Setaria viridis</i>				ACC
<i>Zea mays</i>	(Tsetimi et Okieimen, 2011)	Pot	Nigéria	ACC
<i>Pteris vittata</i>	(Tu et al., 2002)	Pot	États-Unis	ACC
<i>Zea mays</i>	(Urunmatsoma et al., 2010)	Pot	Nigéria	ACC
19 herbacées	(Usman et al., 2012)	Terrain	Corée	ACC
<i>Zea mays</i>	(Uwumarongie-Ilori et Okieimen, 2011)	Pot	Nigéria	ACC
<i>Triticum aestivum</i>	(Dams et al., 2007)	Pot	Royaume-Uni	PCP
<i>Lolium perenne</i>	(Ferro et al., 1999)	Terrain/pot	États-Unis	PCP et HAP
<i>Lolium perenne</i>	(He et al., 2007)	Pot	Chine	PCP
<i>Trifolium repens</i>	(Hechmi et al., 2014a)	Pot	Tunésie	PCP
<i>Lolium perenne</i>				
<i>Medicago sativa</i>				
<i>Brassica napus</i>				
<i>Agropyron cristatum</i>	(Miller et Dyer, 2002)	Pot	États-Unis	PCP et Hydrocarbures
<i>Hebe speciosa</i>	(Sivakumaran et al., 2004)	Pot	Nouvelle-Zélande	PCP
<i>Populus sp.</i>				
<i>Salix sp.</i>				
7 macrophytes aquatiques	(Zhao et al., 2017)	Pot	Chine	PCP
<i>P. communis</i>	(Zhao et al., 2011)	Pot	Chine	PCP
<i>T. orientalis</i>				
<i>S. validus</i>				
<i>Populus sp.</i> «Kawa »	(Mills et al., 2006)	Pot	Nouvelle-Zélande	PCP et ACC
<i>Salix sp.</i> «Tangoio»				

1.4.3 Les espèces indigènes

L'usage de plantes indigènes répond à la préoccupation croissante de la problématique des plantes envahissantes et de la volonté de limiter l'usage de plantes exotiques. Une hypothèse largement reconnue telle qu'illustrée à la Figure 1.4 montre que plus la perturbation d'un site est élevée, plus la diversité diminue (zone grise). Cette perte se fait aux dépens des plantes indigènes (ligne grise), moins compétitives que les espèces exotiques (ligne pointillée). Cette compétition en faveur des plantes exotiques augmente le risque qu'elles deviennent envahissantes. Par exemple, la lutte pour le roseau commun (*Phragmites australis*) à lui seul coûte des millions de dollars par années aux États-Unis (Martin et Blossey, 2013). C'est pourquoi l'usage de plantes indigènes est un critère économique à considérer, d'autant plus que les espèces envahissantes non indigènes constituent la plus grande menace à la biodiversité après la perte des habitats (Ewel et Putz, 2004).

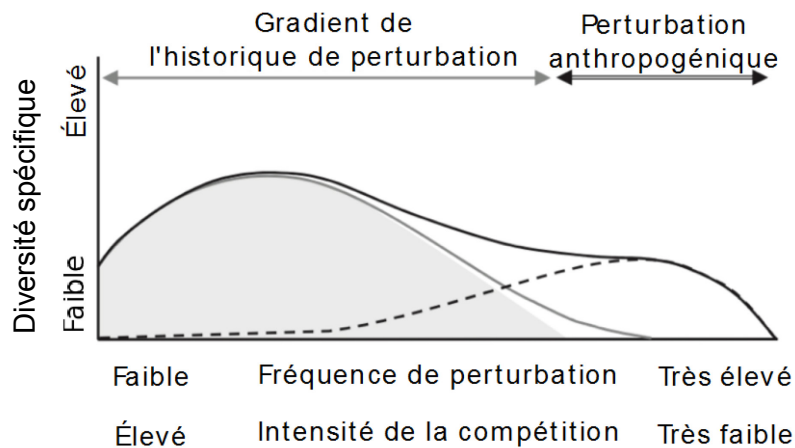


Figure 1.4: Impact de la perturbation des habitats sur la diversité des espèces indigènes et exotiques. « Dans les premiers stades d'invasions, l'introduction d'espèces exotiques combinée à des perturbations humaines exacerbe la courbe IDH et l'augmentation de la richesse spécifique dans les sites hautement perturbés; cela ne réduit pas la richesse des espèces indigènes. Les premiers stades d'envahissement se concentrent sur la colonisation et ils incluent l'introduction et la naturalisation (Richardson et al. 2000). La zone grise indique la diversité spécifique préinvasion; les lignes indiquent la diversité post-invasion et post-perturbation anthropogénique: la ligne noire indique la diversité de la communauté; la ligne pointillée indique la diversité des espèces exotiques; la ligne grise indique la diversité des espèces indigènes. » Catford et al. (2012).

1.5 Objectif

L'introduction a démontré l'ampleur de la problématique des sols contaminés et que la phytoremédiation est une technologie prometteuse et complémentaire à la technique traditionnelle de l'excavation-enfouissement. Par contre, peu d'études ont été réalisées selon les espèces indigènes. De même, peu d'études comparent la réponse physiologique de plantes cultivées sur des sols parfaitement identiques en tout point sauf pour la contamination.

L'objectif de ce projet de maîtrise est donc d'identifier les végétaux ligneux indigènes au Québec les plus appropriés pour la phytoremédiation de technosols contaminés au PCP et à l'ACC.

1.6 Hypothèses

Considérant la corrélation négative de productivité selon la stratégie d'histoire de vie entre les espèces compétitrices et les espèces tolérantes au stress le long d'un gradient de stress, les hypothèses suivantes sont proposées:

- 1) Les espèces auront une réponse différente pour chacun des traitements.
- 2) L'ordre de performance des espèces exposées au traitement non contaminé sera opposé à celui des espèces exposées au traitement contaminé.

1.7 Approche expérimentale

Afin de vérifier les hypothèses, j'ai réalisé une expérience en parcelles divisées (*i.e.* split-plot design) en conditions semi-contrôlées avec neuf espèces ligneuses indigènes au Québec (*Alnus crispa*, *Acer saccharinum*, *Cornus stolonifera*, *Physocarpus opulifolius*, *Rhus typhina*, *Salix bebbiana*, *Sambucus canadensis*, *Salix eriocephala* et *Viburnum trilobum*). Le dispositif était constitué de 4 blocs

expérimentaux. Chacun d'entre eux contenait 10 paires juxtaposées (neuf parcelles plantées et une parcelle non plantée). De manière aléatoire, une des colonnes de chaque paire fut contaminée en PCP et en ACC. À l'intérieur d'une période de croissance de 55 jours, j'ai mesuré et comparé la réponse physiologique entre les traitements (contaminé et non contaminé) en mesurant la survie moyenne, la photosynthèse, la conductance, le rendement quantique maximum du PSII (F_v/F_m) et la fréquence de croissance racinaire pour chacune des neuf espèces. J'ai aussi mesuré la concentration des ET dans les tiges des individus du traitement contaminé.

Chapter 2: Physiological Response of Woody Species Exposed to a Mixed Contamination (PCP & CCA) in a Phytoremediation Context.

Philippe Heine¹, Cédric Frenette-Dussault² Gérald J. Zagury³, Jacques Brisson², Michel Labrecque²

1. Département de Sciences biologiques, Université de Montréal, C.P. 6128, succ. Centre-ville, Montréal, Québec, Canada, H3C 3J7

2. Institut de recherche en biologie végétale, 4101 Sherbrooke East, Montréal Québec, Canada, H1X 2B2

3. Department of Civil, Geological and Mining Engineering, École Polytechnique de Montréal, Montréal, Québec, Canada, H3C 3A7

2.1 Abstract

A pot experiment was conducted to investigate the potential of nine native woody species for phytoremediation in a non-contaminated and a mixed (PCP and CCA) highly contaminated technosol. The plant response to high PCP and CCA contamination was studied. Their potential was based upon survival, productivity and translocation of Cr, Cu, and As to aboveground biomass. We hypothesized that the species would have a variable response in each treatment. We also hypothesized that the performance ranking would be opposite between the two treatments. The results confirmed these hypotheses. Thus, a good phytoremediation species is one that has a median performance in both treatments, which was the case for *Salix bebbiana*. The experiment was limited to one high concentration of PCP and CCA. Further studies should investigate plant responses with lower concentrations to verify if the hypotheses still hold.

Keywords: PCP, CCA, dioxins, furans, phytoremediation, native species, contaminated soils

2.2 Introduction

Phytoremediation is the use of plants to decontaminate soils. It is a decade-long alternative to the traditional dig-and-dump method. Plants can absorb trace elements (TE) through their roots and translocate them into their shoots to be harvested. Contaminated shoots are then treated as a waste hazard. Plants do not readily absorb organic contaminants, but they can facilitate the degradation of the toxic organic compounds into inert forms. The degradation can be facilitated by bacteria, fungi, and root exudates. Phytoremediation is a slower process than the dig-and-dump method, but it is cost-effective and environmentally-friendly (Chirakkara et al., 2016; Feng et al., 2017).

Contaminated soils are usually classified as technosols. Technosols are defined by the presence of industrial artifacts such as a permeable surface (asphalt, PVC membrane, etc.), mine tailings, pesticides, petroleum, etc. Technosols are not necessarily toxic but their edaphic properties are stressful for plant growth. Indeed, they can easily have a suboptimal pH, high salinity, high compaction and low organic matter and nutrients. If a plant cannot thrive in such a substrate, it is unlikely that it would remediate a contaminated technosol successfully.

Most of the literature on phytoremediation focused solely on one contaminant. Early phytoremediation studies focused mainly on inorganics (Giordani et al., 2005; Ruso et al., 2001; Simon et al., 2012). Organic mono-contamination was also studied (Feng et al., 2017; Kassel et al., 2002; Kim et al., 2004; Kirk et al., 2002). Mixed contaminated soils contain both organic and inorganic contaminants. They represent a greater issue regarding remediation since the presence of multiple types of chemicals can have synergic effects on plant physiology (Batty et Dolan, 2013). Although some studies have addressed mixed contamination (Hechmi et al., 2014b; Hechmi et al., 2013; Lin et al., 2006; Mills et al., 2006; Ramamurthy et Memarian, 2012; Singer et al., 2007), more work needs to be done. A concrete example

of mixed contaminated soil is lumber yards contaminated by the leaching of pentachlorophenol (PCP) and chromated copper arsenate (CCA). They are preservative agents used to protect wood from environmental degradation (Balasoiu et al., 2001). Due to its high toxicity, PCP was replaced by CCA, but both are still present in soils' lumber yards.

When implementing phytoremediation, special care must be given to species selection due to the potential harm or benefit to local biodiversity. For example, in northeastern America, exotic species such as *Brassica juncea*, *Salix miyabeana*, and *Salix viminalis* are often used (Pitre et al., 2010). Despite their effectiveness, a greater concern has been raised upon the danger of exotic invasive species (Catford et al., 2012). The use of native species brings secondary ecological advantages, such as the enhancement of local biodiversity and a stronger resilience of the ecosystem to diseases for example (Burghardt et al., 2009). Social acceptance is also an argument in favor of their use. However, very few native species were actually studied. To diversify the choice of native species, potent native woody species in a context of mixed soil contamination were identified.

The study objective was to determine the best performing native species for the phytoremediation of a technosol contaminated with PCP and CCA. To address the objective, a pot experiment was conducted with a synthetic mineral substrate with nine species. The hypothesis was that the species performance rank in the non contaminated treatment would be reversed compared to the contaminated treatment.

2.3 Materials and Methods

2.3.1 Experimental Conditions

Between June 21 and August 14, 2017 (55 days), a randomized split-plot mesocosm experiment replicated four times was conducted in a greenhouse of the Montreal Botanical Garden (MBG; 45.563788, -73.562837, altitude = 26 m). Each block contained nine planted pairs and one non-planted pair placed side by side. In each pair, one pot was contaminated and the other was not (Total of 80 mesocosms).

2.3.2 Soil and Mesocosm Conception

Mesocosms were built using 132 L HDPE columns (40 cm diameter, 75 cm height). The bottom of the columns had a 10 cm layer of 19 mm rock. Before filling the columns with soil, a transparent acrylic tube (73 cm tall, 7.5 cm in diameter) was installed to take root pictures (CI-600 digital root Imager from CID Bio-Science). A PVC tube (2,5 cm diameter) was also installed to reach the bottom of the column to drain contaminated water (Figure 2.1).

The substrate was a mixture of five parts of stone dust (0-6 mm), one part of sand, one part of 6 mm stone, and three parts of topsoil to mimick the composition of a technosol. The substrate was nutrient-poor (Table 2.1) and thus constituted additional stress for plant growth. Each column was filled 10 cm to the top, representing a total mass of 150 kg.

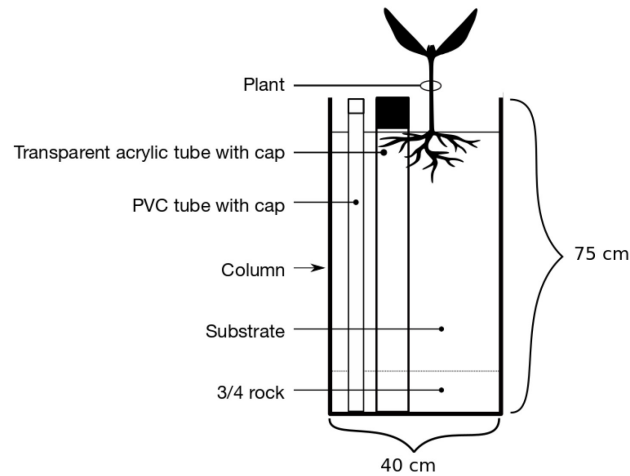


Figure 2.1: Experimental unit.

Table 2.1: Main substrate characteristics (5-10 cm).

Characteristics	Average value
Soil texture	Loamy sand
Sand : Silt : Clay	83 :14 :1.5
pH	7.53 ± 0,09
Conductivity (µs)	868 ± 105
Total carbon (TC) (%)	6.86 ± 0.41
Total organic carbon (TOC) (%)	0.67 ± 0.12
Total inorganic carbon (TIC) (%)	6.19 ± 0.37
Organic dissolved carbon (ODC) (%)	5.96 ± 0.63
Total nitrogen (TKN) (mgN/g)	1.11 ± 0.24
Carbon nitrogen ratio (C:N)	6.18
Field capacity (%)	3 ± 2
Total porosity (%)	42 ± 0
Air porosity (%)	10 ± 1
Water porosity (%)	32 ± 1
Density (g/L)	1145 ± 46
Compaction (%)	9±1

Half of the columns remained uncontaminated, and the other half was contaminated with PCP and CCA along with a stabilization process. Concentrations were determined based on Lin et al. (2006). The lowest co-contamination concentration used was selected which was 50 mg/kg of PCP and 150 mg/kg of Cu. These concentrations were not detrimental for plant biomass production as opposed to the 100 mg/kg PCP and 300 mg/kg Cu treatment (Lin et al., 2006). Since As is more toxic than Cu, 150 mg/kg of As was aimed knowing that the mixed contamination could be more toxic than the one of Lin et al. (2006),

because of the addition of As and Cr. Therefore, 50 mg/kg of PCP, 150 mg/kg of As, 230 mg/kg of Cr and 54 /kg Cu were aimed (Table 2.2).

Table 2.2: Soil contaminant concentration at 5 cm below the surface (n = combined 3 samples/column *3 columns).

Contaminants	Measured average concentration (mg/kg±SD)
Pentachlorophenol (PCP)	38 ± 22
Dioxins and Furans	0.0003 ± 0.0007
Chromium (Cr)	190 ± 24
Copper (Cu)	195 ± 93
Arsenic (As)	360 ± 420

The contamination was applied by pouring the solution from the top, to mimic an accidental spill. The PCP solution was obtained by diluting 215 g of PCP in 4 L of biodiesel (B100) overnight. 100 ml of the solution was then poured in 40 HPDE screwing bottles (125 ml). One at a time, the 100 ml solution was poured into 2 L of water mixed with coco-betaine as a surfactant (Reynier et al., 2014). Then the 2 L PCP solution was poured on top of every contaminated column. 120 ml of CCA solution (60%, Stella Jones Inc.) was diluted in 2 L of distilled water. This solution was poured on top of every contaminated column.

Before plantation, all the columns underwent an aging/stabilization procedure. The objective was to simulate the natural phenomenon caused by the alternation of anaerobic and aerobic conditions in the field (Lin et Puls, 2000). This phenomenon was replicated on a reduced time scale by alternating the wetting and drying stages. This procedure was inspired from the methodologies found in Balasoïu et al. (2001) and Li et al. (2015). The original protocols were performed in lab conditions with small soil volumes, distilled water and the samples were mechanically agitated. Due to the large columns' volume, tap water was used and the soil was not agitated during wetting cycles.

The soil was wetted four times with tap water at 50% of water retention capacity. Wetting was followed by a 72 h drying phase at ambient temperature. The PCP solution was applied in half of the columns during the second wetting phase and the CCA during the fourth wetting phase. Due to the large volume of substrate it was not possible to homogenize thoroughly. Consequently, a contamination gradient naturally occurred due to the differential affinity of the contaminants with substrate particles.

To facilitate plant establishment, the soils was covered with 2 L of shrimp compost, 50 mL of solid Acer fertilizer 12-4-14 (PlantProducts Inc.), and a layer of willow mulch (Agro Énergie Inc.). All these interventions are justified because the preparation of the soil is a usual procedure on an external site for phytoremediation.

2.3.3 Experimental Design and Sampling

The criteria for plant species selection were the ability to produce large amounts of biomass in a short period, the ability to grow back after coppicing, biogeographic origin, and availability in local plant nurseries. Only indigenous species were selected for two reasons. The first one was to take advantage of the secondary benefits such as enhanced local biodiversity. The second one was to minimize the risks of introducing exotic invasive species. Pioneer shrub species of northeastern America were selected: *Acer saccharinum*, *Alnus crispa*, *Cornus stolonifera*, *Physocarpus opulifolius*, *Rhus typhina*, *Salix bebbiana*, *Salix eriocephala*, *Sambucus canadensis*, and *Viburnum trilobum*. One-year-old plants were used to maximize survival rates and avoid problems related to establishment and seed germination.

Plants were established on June 21 2017. They were irrigated with tap water every day or every other day for the first two weeks, and when well established they were irrigated as needed (once or twice a week) with water pumped from the bottom of the column.

Photosynthesis and conductance measurements were taken with a portable photosynthesis system (Li-Cor 6400XT) on June 25, July 3, July 15, July 29 and August 12 between 11 am and 1 pm each time. The

CO₂ mixer was fixed at 400 μ mol, and lamp ParIn at 1500 μ mol, the flow at 500 μ mol/s and the cooler was turned off. Fv/Fm measurements were taken after photosynthesis measurements with the OS30p Opti-sciences. Clips were placed 30 min before measurement. Root pictures were taken on June 23 and July 10.

TE content (As, Cu, Cr) of contaminated plants was analyzed in stems at the end of the season. The samples were dried and then reduced to powder in a shredder. They were treated with 2 ml of nitric acid and digested at 120 °C for 5 h in a block Gerhardt digester. Once diluted and filtered (0,45 μ m), samples were analyzed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) using Perkin Elmer NexION 300x (Wilson et al., 2005).

Field capacity, total porosity, air porosity, water porosity, density, and compaction were measured before the beginning of the experiment (n=3; Table 2.1) (Yu et al., 2015). Conductivity and pH were measured once a week in one random sample (5-10 cm) during the experiment with a Hanna WaterProof Combo pH & EC Pen. The soil texture was determined by the adapted protocol of Bouyoucos (1962) (Appendix 3). At the end of the experiment, three soil samples from three random columns per block (total of 12 columns) were collected from the surface (5-10 cm) to analyze the content of PCP, dioxins, furans (method MA.400-Phé 1.0 R3m), As, Cu, and Cr (method MA.200-Mét 1.2 R5m). After the end of the experiment, we also characterized soil for TOC, TIC, and C/N from the surface (5-10 cm) of 5 uncontaminated columns.

2.3.4 Physiological Performance Ranking

A ranking system was created based on the three most important physiological proxies (survival, photosynthesis, and frequency of observed root elongation). Fv/Fm nor conductance were retained due

to their high correlation to photosynthesis. The classification is based on the statistical significant differences translated on a scale of 1 to 3. The highest statistically significant species were attributed a score of 3, the least significant have a score of 1, and the remaining receive a score of 2. When no statistical significance was present, all species receive a score of 2. Each proxy was added up to a score ranging from 4 to 9. The obtained ranks allowed the identification of the most performing species in the non-contaminated and contaminated treatments.

2.3.5 Statistical Analysis

The following response variables were tested: photosynthesis, conductance, Fv/Fm, Cr, Cu, and As twig concentration and root growth occurrence. A split-plot 3-way ANOVA ($\alpha=0.05$) followed by a post hoc Tukey test ($P < 0.05$) was conducted to test the effect of species identity and contamination on photosynthesis, conductance, Fv/Fm, and TE phytoextraction. A log-transformation on biomass and Cu concentration was applied to respect the test's normality conditions. Since root growth occurrence was not normally distributed, these results were analyzed with a logistic GLM. All statistical analyses were performed with JMP® version 9.0.1.

2.4 Results

2.4.1 Survival

In the non-contaminated treatment, all four replicates of most species survived until the end of the experiment (55 days) (Figure 2.2). Only three species had a lower mean survival rate: *A. crispa* (40 days), *S. canadensis* (39 days), and *P. opulifolius* (25 days) (Figure 2.2).

None of the species growing in the contaminated columns had its four replicates survive until the end of the experiment (Figure 2.2). In decreasing order of survival, we observed *V. trilobum* and *S. bebbiana* (47 days), *A. saccharinum* (44 days), *R. typhina* (38 days), *A. crispa*, *C. stolonifera* and *S. eriocephala* (37 days), *S. canadensis* (36 days) and *P. opulifolius* (17 days). There was no significant interaction between the treatments and the species ($P= 0.6835$).

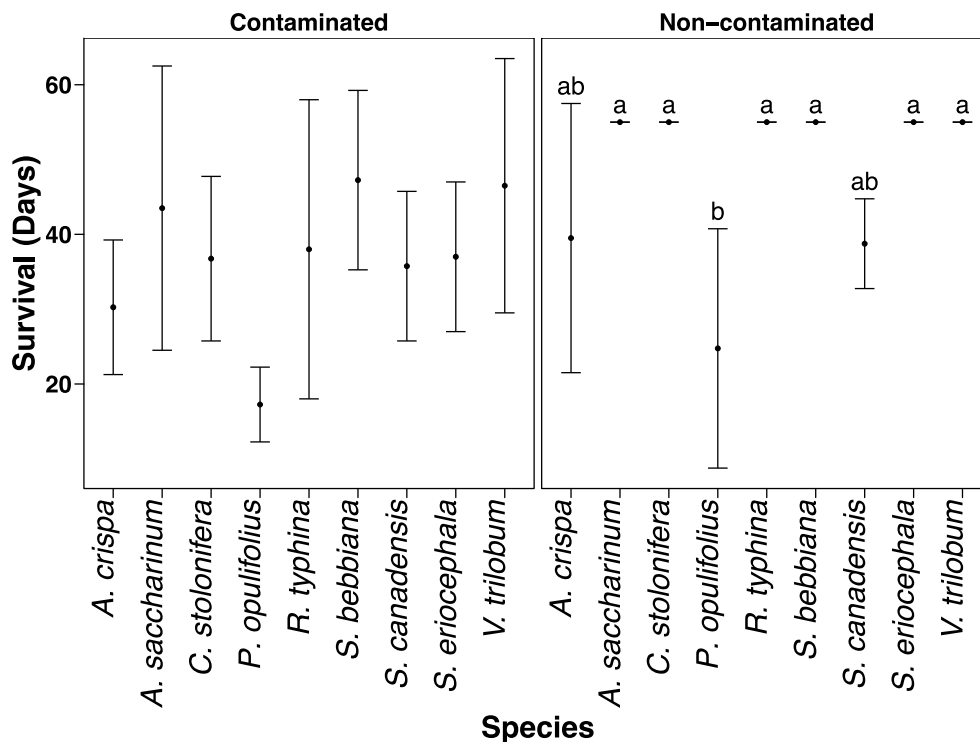


Figure 2.2: Mean survival in days (N = 4) for nine woody species growing in a non-contaminated and a contaminated mesocosm. Values are means; bars indicate ± 1 SD

2.4.2 Photosynthesis, Conductance, and Fv/Fm

Contamination had a significant effect on photosynthetic rate ($P = 0.0002$). Significant differences between species were also detected ($P < 0.0001$). No interaction between contamination and species was observed. In the non-contaminated treatment, photosynthesis ranged from 4.1 ± 2.6 (mmol CO₂/m²/s) (*A. crispa*) to 16.8 ± 5.5 (mmol CO₂ /m²/s) (*R. typhina*) (Figure 2.3). In the contaminated treatment photosynthesis ranged from -0.3 ± 2.1 (mmol CO₂/m²/s) (*A. saccharinum*) to 3.8 ± 3.8 (mmol CO₂ /m²/s) (*P. opulifolius*) (Figure 2.3).

Conductance was significantly affected by contamination ($P < 0.0001$), species ($P < 0.0001$), and the interaction between both variables was significant ($P < 0.0001$). In the non-contaminated treatment, conductance varied from 47.8 ± 12.7 (mmol H₂O /m²/s) (*A. crispa*) to 271 ± 155 (mmol H₂O /m²/s) (*R. typhina*) (Figure 2.3). In the contaminated treatment conductance varied from 15 ± 8.5 (mmol H₂O /m²/s) (*A. saccharinum*) to 52 ± 77 (mmol H₂O /m²/s) (*S. canadensis*) (Figure 2.3).

Fv/Fm was significantly different among species ($P < 0.0284$), but there was no significant difference for contamination ($P = 0.1944$). There was no significant interaction between species and contamination ($P = 0.1858$). In the non-contaminated treatment Fv/Fm ranged from 0.65 ± 0.08 (mmol H₂O /m²/s) (*A. saccharinum*) to 0.72 ± 0.10 (*A. crispa*) (Figure 2.3). In the contaminated treatment, Fv/Fm ranged from 0.63 ± 0.11 (*S. canadensis*) to 0.72 ± 0.08 (*R. typhina*) (Figure 2.3).

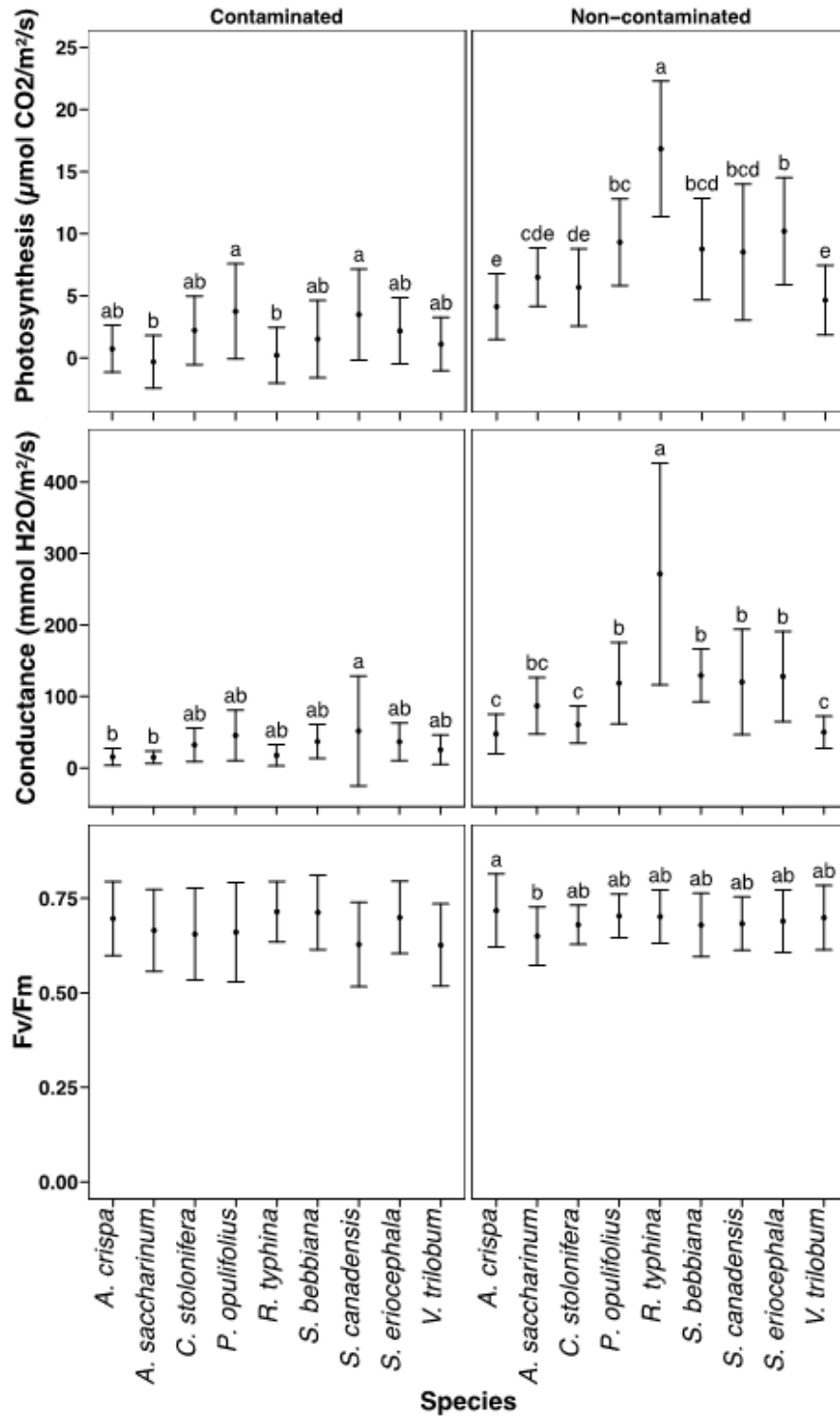


Figure 2.3: Photosynthesis rate, conductance, and maximum quantum yield of PSII (Fv/Fm) for nine woody species (*Alnus crispa*, *Acer saccharinum*, *Cornus stolonifera*, *Physocarpus opulifolius*, *Rhus typhina*, *Salix bebbiana*, *Sambucus canadensis*, *Salix eriocephala* and *Viburnum trilobum*) growing in non-contaminated and contaminated columns. Different letters identify statistical differences (Tuckey, $P < 0.05$). Bars represent ± 1 SD.

2.4.3 Root Growth Occurrence

In the non-contaminated treatment, all replicates have developed observable root elongation for *A. saccharinum*, *C. stolonifera*, *R. typhina*, *S. canadensis* and *S. eriocephala* (Table 2.3). Only one replicate out of four developed root elongation for *A. crispa* and *V. trilobum*. In the contaminated treatment, root occurrences were below 100% except for *S. bebbiana*. No root elongation was observed for *C. stolonifera* and *R. typhina* (Table 2.3). However, it must be pointed out that non-destructive *in situ* root observation through CID photography limited the possibility to observe the entire root system.

Table 2.3: Occurrence of root growth in the non-contaminated and contaminated treatments (PCP and CCA) for nine native woody species (n = 4).

Species	Non-contaminated ($P = 0.0001^*$)	Contaminated ($P = 0.0041^*$)	P
<i>Alnus crispa</i>	1/4	2/4	0.4097
<i>Acer saccharinum</i>	4/4	1/4	0.0039*
<i>Cornus stolonifera</i>	4/4	0/4	0.0009*
<i>Physocarpus opulifolius</i>	3/4	2/4	0.4097
<i>Rhus typhina</i>	4/4	0/4	0.0009*
<i>Salix bebbiana</i>	3/4	4/4	0.0959
<i>Sambucus canadensis</i>	4/4	2/4	0.0185*
<i>Salix eriocephala</i>	4/4	2/4	0.0185*
<i>Viburnum trilobum</i>	1/4	1/4	1.0000

2.4.4 Plant Trace Element Concentration

Aboveground biomass concentration for As, Cr and Cu were analyzed for stems. Due to low biomass yield, no data is available for *P. opulifolius* and *S. canadensis*. No significant difference between species for Cr concentration was observed ($P = 0.0618$). The minimum Cr concentration was observed in *A. crispa* (2.0 ± 0.9 mg/kg), and the maximum concentration was observed in *S. eriocephala* (9.4 ± 0.1 mg/kg) (Figure 2.4). Significant differences for Cu ($P < 0.0001$) and As ($P < 0.0004$) concentrations were detected among species. The species with the highest Cu concentration was *R. typhina* (92.1 ± 31.6 mg/kg) and the species with the lowest Cu concentration was *A. saccharinum* (1.4 ± 0.4 mg/kg) (Figure

2.4). The species with the highest As concentration was *S. eriocephala* (15.4 ± 0.2 mg/kg) and the species with the lowest As concentration was *R. typhina* (2.4 ± 1.5 mg/kg) (Figure 2.4).

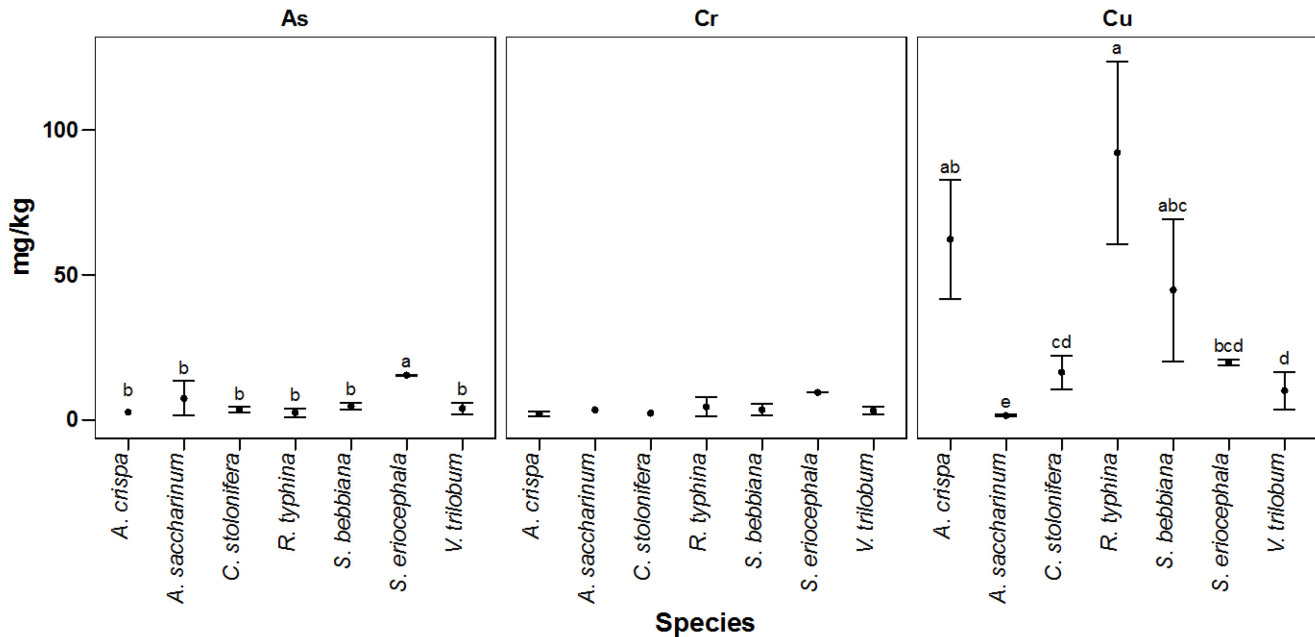


Figure 2.4: Stem trace element concentrations (Arsenic, Chromium, and Copper) in 7 native woody species (*Alnus crispa*, *Acer saccharinum*, *Cornus stolonifera*, *Rhus typhina*, *Salix bebbiana*, *Salix eriocephala* and *Viburnum trilobum*) exposed during 55 days to a mixed contaminated substrate (PCP and CCA). Different letters identify statistical differences (Tuckey, $P < 0.05$). Error bars represent ± 1 SD.

2.4.5 Physiological Performance Ranking

Based on survival, photosynthesis and root growth occurrence, a performance score was attributed for all species in each treatment respectively (Figure 2.5). The most performing species in the non-contaminated treatment (8-9) – *R. typhina*, *S. eriocephala*, *A. saccharinum* and *C. stolonifera* – are among the least performing species in the contaminated treatment (4-6). The moderately performing *S. bebbiana* and *S. canadensis* (7) kept similar scores when exposed to the contaminated treatment, placing them at the top of the ranking. The three least performing species in the non-contaminated treatment (4-5) – *V. trilobum*, *P. opulifolius* and *A. crispa* – moved toward the middle of the ranking in the contaminated treatment (6-7). Overall, the non-contaminated rank differed from the contaminated rank in a reverse fashion (Spearman's correlation coefficient: -0.68 , $P = 0.042$).

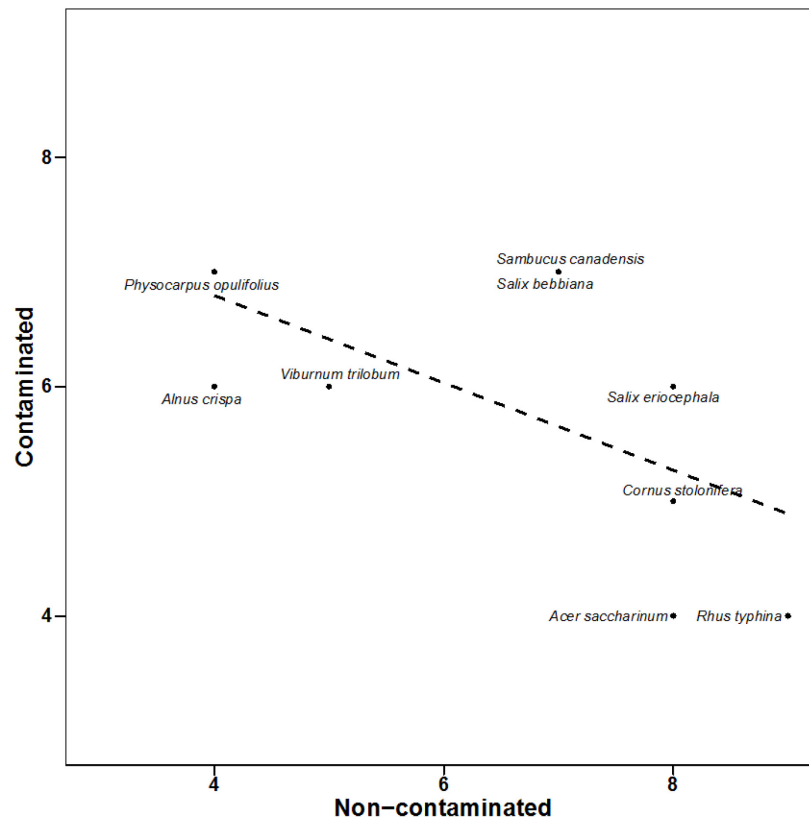


Figure 2.5 Relative physiological performance correlation based on survival, photosynthesis and root growth occurrence in the non-contaminated and contaminated treatment (Spearman's correlation -0.68, $P = 0.042$).

2.5 Discussion

a range of responses was observed among the studied species. In a non-contaminated technosol, certain species had difficulties to survive until the end of the experiment (*A. crispa*, *P. opulifolius*, and *S. canadensis*). Therefore, these species are unlikely suitable for any decontamination project in similar edaphic conditions. All species were negatively affected by the contaminated treatment.

Based on the relative physiological performance ranks, the hypothesis that the most performing species in the non-contaminated treatment were the least performing in the contaminated one was confirmed (Spearman's correlation coefficient: -0.68). As previously stated, a possible explanation is that genes related to the resistance of inorganic contamination come with a trade-off of lower competitiveness

compared to not specifically adapted species to inorganic contamination (McCutcheon et Schnoor, 2003). It is also possible that fast-growing species are more rapidly in contact with stressors and become more quickly and drastically affected (Weih, 2001).

R. typhina is known to tolerate saline soils (USDA, 2018a), which is a significant advantage when growing in a technosol composed mainly of rock dust. It performed very well in the non-contaminated technosol but was barely able to survive in the contaminated one. Plants tolerate and absorb specific TE more efficiently than others. Their specificity must be taken into consideration when selecting the right plant for a specific situation. For example, *R. typhina* was successful in the presence of Pb (up to 1200 mg/kg) and Ni contaminated substrate (Lu et al., 2010; Shufeng et Yujian, 2012; Xin-Chun, 2010). *R. typhina* absorbed significantly more Cu than any other species. Having exceeded normal Cu shoot levels, *R. typhina* was barely able to survive. Nevertheless, *R. typhina* is probably a promising native species for phytoremediation up to a specific toxic threshold.

S. eriocephala was among the best-performing species in the non-contaminated technosol. It requires low fertilization, and it is resistant to low pH (USDA, 2018a). It proved to be able to absorb significantly more Cr than the other species. Even though the amount cannot be considered acceptable for remediation, it is possible that *S. eriocephala* would have a higher potential of inorganic extraction in a less toxic environment. It is important to point out that *S. eriocephala* is As sensitive due to the lack of a phosphorous transporter mechanism (Puckett et al., 2012).

A. saccharinum performed well in the non-contaminated technosol. It has all the required physiological traits of a good potential candidate. It has an excellent coppicing potential; it has a rapid growth and a high biomass production, adapted to all soil textured, low fertility needs, high root depth development, and low pH tolerance. Unfortunately, it was not remarkably performing in the mixed contaminated

technosol. *A. saccharinum* is poorly studied in a context of phytoremediation; it was only mentioned in Marmiroli et al. (1999) and in Siwik et al. (2010). Due to its high physiological capacity in the non-contaminated treatment, it would be valuable to investigate its potential in a different contamination context. *A. saccharinum* is an excluder of Fe, Mn, Ni, and Zn, but an avoider of Cu (Nkongolo et al., 2017). Restriction of many TE translocation might be adequate for stabilization but not for extraction.

C. stolonifera had a 100% survival success in the non-contaminated treatment. Furthermore, it had a relatively high physiological performance. However, its physiological performance in the contaminated treatment was very low. *C. stolonifera* is not suitable to remediate a recent spill of PCP and CCA, but it proved to be able to remediate lower concentration of inorganic contaminants (Heale et Ormrod, 1982; Nguyen et al., 2017). *C. stolonifera* has the advantage to be able to grow in very dense cultures, even higher than *S. bebbiana* (1210 to 4850 plants per acre - (USDA, 2018a). Even though it does not perform as well as most willow species, *C. stolonifera* could be a suitable complement to any phytoremediation project of low to moderate inorganic contaminated sites. Its success for organic decontamination remains to be studied.

S. bebbiana had a relative moderate physiological performance in the non-contaminated treatment but maintained its score in the contaminated treatment. Thus, *S. bebbiana* was tolerant to a stressful technosol with a recent spill of PCP and CCA. Also, it can be planted at a density of 1700-4800 individuals per acre (USDA, 2018a), which is valuable for phytoremediation since a dense plantation translates into a higher contaminant yield per surface unit. For all those reasons, *S. bebbiana* is a recommended candidate for phytoremediation of mixed contamination.

S. canadensis was moderately performant in the non-contaminated treatment but maintained its score in the contaminated treatment. It is the one with the highest tolerance to alkaline soil (pH 8.9). However, it

did not survive until the end of the experiment in the non-contaminated technosol. *S. canadensis* was moderately performing. It would have probably performed better in less toxic environment, but its poor performance in the non-contaminated treatment suggests that it does not seem an appropriate candidate for future phytoremediation projects. Nevertheless, more studies need to be conducted to confirm this claim.

V. trilobum survived until the end of the experiment in the non-contaminated technosol. However, it is a short, slow-growing plant with shallow root penetration. It has never been studied for phytoremediation before. Nonetheless, from a physiological perspective, it is interesting to point out that a relatively high survival capacity to contamination was observed. It might be explained by its slow growth and the high content in lignin or other physiological traits. Maybe *V. trilobum* is a good excluder, but it is not a good remediator.

P. opulifolius did not survive until the end of the experiment in the non-contaminated treatment. It is a slow growing, short plant with shallow root penetration, and is not tolerant to alkaline soils (maximum pH 6.5). In the contaminated treatment, it had the lowest survival rate. For all those reasons, it is not a recommended candidate for phytoremediation in a technosol.

A. crispa did not survive until the end of the experiment in the non-contaminated treatment. It is a short plant with low nitrogen fixation capacity. However, this was not sufficient to thrive in non-contaminated technosol. It was previously studied for a variety of inorganic contaminants (Fessenden et Sutherland, 1979; Nguyen et al., 2017). However, it does not seem to be a suitable candidate for remediation of mixed contamination in PCP and CCA.

2.6 Conclusion

This study focused on plant responses when growing on a highly contaminated soil (PCP and CCA). The appropriate species choice for phytoremediation can be obtained with a few physiological parameters namely survival, photosynthesis and root growth occurrence. A good candidate must first be able to perform in a stressful non-contaminated technosol. It also needs to maintain its growth in a contaminated soil. From all studied species, only one species fulfilled those criteria: *S. bebbiana*. All species responded differently to the treatments. As articulated in the hypothesis, the species most performing in the non-contaminated treatment were relatively less performing in the contaminated treatment (Spearman's correlation coefficient: -0.68). Thus, at least one native species proved to be a promising candidate for the phytoremediation of a highly contaminated technosol with PCP and CCA.

For future experiments it is suggested to investigate the response of plants in a gradient concentration of a mixed contamination to assess in more details the physiological performance variation. It is also suggested to perform a long-term study to observe the species' remediation potential regarding coppicing response and biomass production.

2.7 Acknowledgements

This project was financially supported by the Phytotechnology NSERC/Hydro-Québec Industrial Research Chair. The authors sincerely thank Patrick Boivin, Benoit St-Georges, Vanessa Grenier, Vlad Parasquive, Daniel Auger, Jacques Baril et Adrien Frémont for their assistance; and Stéphane Daigle for his invaluable statistical help. The authors also acknowledge the generosity of Muriel Cronier and Pierre Rémillard from Stella Jones for having provided the CCA and the PCP.

Chapitre 3 Conclusion générale

Ma recherche a permis d'évaluer la performance de neuf espèces d'arbustes indigènes pour leur capacité à croître dans un technosol non contaminé et contaminé. J'ai confirmé l'hypothèse selon laquelle les espèces avaient une réponse physiologique différente les unes des autres. Cela m'a permis par la suite de confirmer l'hypothèse selon laquelle le rang de performance des espèces en traitement non contaminé est globalement inversé par rapport au rang du traitement contaminé (Coefficient de corrélation de Spearman : -0,68). Ce résultat nous permet d'éclairer nos critères de sélection quant au choix d'une espèce optimale pour la phytoremédiation. Ainsi, des plantes performant très bien en milieu non contaminé telles que *R. typhina* et *A. saccharinum* perdaient tout avantage compétitif en milieu contaminé. Inversement, une plante relativement peu performante en sol non contaminé devenait relativement plus performante que *R. typhina* et *A. saccharinum*. Enfin, une espèce modérément performante en traitement non contaminé telle que *S. bebbiana* demeurait modérément performante en traitement contaminé. Ces résultats montrent qu'une espèce phytoremédiatrice de choix doit être modérément compétitive dans un technosol non contaminé. Par contre, si elle est trop compétitive, on pourrait s'attendre à ce que cet avantage se retourne contre elle, quand elle est exposée à une contamination hautement toxique. En définitive, je suggère de privilégier une espèce modérément compétitive en milieu non contaminé tel que *S. bebbiana* qui a le potentiel de demeurer résistante au stress supplémentaire de la contamination.

La revue de littérature réalisée en introduction (Tableau 1.2) démontrait la capacité phytoremédiatrice de *A. crispa*, *A. saccharinum*, *C. stolonifera*, *R. typhina*, *S. bebbiana* et *S. eriocephala* pour la co-contamination inorganique. Mon expérience a permis d'étendre notre savoir sur leur performance dans un technosol non contaminé et contaminé. À ce jour, *P. opulifolius*, *S. canadensis* et *V. trilobum* et n'avaient jamais été étudiées dans un contexte de phytoremédiation. *P. opulifolius* ne s'est démarqué

dans aucun des traitements. *S. canadensis* a conservé sa valeur de 7 la positionnant au même niveau que *S. bebbiana* dans le rang des espèces. Bien qu'étant relativement plus performante dans le traitement contaminé, sa performance physiologique absolue n'était pas suffisante pour un usage en phytoremédiation. *V. trilobum*, était relativement moins performante dans chacun des traitements. Cela s'explique en particulier par sa faible production de biomasse. Dans tous les cas, le choix des espèces dépend du contexte et doit considérer les propriétés biophysicochimiques du sol, la nature et la concentration des contaminants. Ainsi, pour un sol hautement contaminé je proposerais *S. bebbiana* et pour un sol peu, voire modérément contaminé, je suggèrerais l'usage de *R. typhina* (en particulier pour l'extraction du cuivre) et de *S. eriocephala* (en particulier pour l'extraction de l'arsenic).

Bien que les espèces étudiées ne se soient pas révélées significativement plus performantes que les espèces généralement utilisées, elles ont le bénéfice supplémentaire d'être indigènes au Québec. Par surcroît, elles apporteront aux projets de phytoremédiation une valeur ajoutée quant à l'acceptabilité sociale, qui attirera une plus grande biodiversité d'insectes pollinisateurs et d'oiseaux. Sans oublier le fait qu'elles éliminent presque à zéro la possibilité de devenir des espèces envahissantes nuisibles.

Afin d'assurer le succès de tout projet de phytoremédiation, il est recommandé de préparer le sol si nécessaire. Les zones contaminées sont souvent sur des sites industriels ayant un sol de type technosol. Ce type de substrat n'est généralement pas propice à la croissance des plantes. C'est pourquoi il faut tout d'abord vérifier le pH, la salinité et la fertilité (N, P, K). Si le pH est trop alcalin, il serait recommandé d'y appliquer un agent acidifiant. Si le sol est trop salin, dans ce cas il est inutile d'espérer pouvoir faire pousser quoi que ce soit au-delà de 2000 μs . Si le sol n'est pas assez fertile, il sera alors judicieux d'y appliquer un fertilisant en granule à dégradation lente. Il est aussi possible d'y ajouter une couche de compost, ce qui a aussi l'avantage de fournir de la matière organique et une couche de substrat permettant l'établissement des premières racines.

Dans le cadre de mon expérience, j'ai pu répondre à mes objectifs et hypothèses, mais au passage plusieurs questions ont émergé. En voici quelques-unes qui pourraient faire l'objet de futures expériences. Dans mon expérience comme dans plusieurs autres, je me suis intéressé à l'effet de la contamination sur un seul individu à la fois. Afin de mieux représenter un contexte naturel, il serait intéressant d'évaluer l'effet de la contamination dans un mésocosme ayant plus d'un individu *ou* avec une combinaison d'espèces. Nous savons aussi que la phytoremédiation implique un ensemble de processus physiologiques complexes. L'un d'entre eux qui devraient attirer notre attention serait le rôle des exsudats racinaires dans la résistance et la remédiation des contaminants organiques et inorganiques. Une des limites de mon expérience fut sa courte durée. Une étude à long terme permettrait d'évaluer la production de biomasse par hectare et la réponse au recépage. Une autre limite de mon expérience fut l'usage d'un seul traitement contaminé. Considérant les concentrations utilisées comme « extrêmement stressantes », il serait intéressant d'employer un gradient de contamination de PCP et d'ACC intermédiaire. Nous pourrions ainsi évaluer si l'hypothèse des rangs inversés demeure vraie, quelle que soit la concentration.

Les espèces choisies devaient être indigènes, car nous reconnaissons leurs bénéfices sur la biodiversité locale. Il serait intéressant de vérifier cette supposition dans un contexte de phytoremédiation et évaluer les avantages sur la biodiversité par rapport au risque potentiel d'introduire des contaminants dans la chaîne alimentaire.

En définitive, ma recherche a permis de montrer que certaines espèces indigènes avaient le potentiel d'être utilisées en phytoremédiation sur un technosol à contamination mixte en PCP en ACC. *S. bebbiana* en particulier s'est démarqué de par sa résistance autant au stress du technosol non contaminé que du traitement contaminé. Puisque le choix de l'espèce est primordial dans la réussite de tout projet de phytoremédiation, et que certaines espèces n'avaient pas ou peu été étudiées dans ce contexte, j'estime que ma recherche fut une avancée appréciable dans le domaine.

Bibliographie

- Abbas, G., Murtaza, B., Bibi, I., Shahid, M., Niazi, N. K., Khan, M. I., Hussain, M. . . . (2018). Arsenic Uptake, Toxicity, Detoxification, and Speciation in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Aspects. *International journal of environmental research and public health*, 15(1).
- Ali, H., Khan, E. et Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881.
- Allen, H. E., Hall, R. H. et Brisbin, T. D. (1980). Metal speciation. Effects on aquatic toxicity. *Environmental science & technology*, 14(4), 441-443.
- Anjum, N. A., Pereira, M. E., Ahmad, I., Duarte, A. C., Umar, S. et Khan, N. A. (2012). *Phytotechnologies: remediation of environmental contaminants*. CRC Press.
- Balasoïu, C. F., Zagury, G. J. et Deschenes, L. (2001). Partitioning and speciation of chromium, copper, and arsenic in CCA-contaminated soils: influence of soil composition. *Science of the Total Environment*, 280(1), 239-255.
- Batty, L. C. et Dolan, C. (2013). The potential use of phytoremediation for sites with mixed organic and inorganic contamination. *Critical reviews in environmental science and technology*, 43(3), 217-259.
- Beauchamp, S., Jerbi, A., Frenette-Dussault, C., Pitre, F. E. et Labrecque, M. (2018). Does the origin of cuttings influence yield and phytoextraction potential of willow in a contaminated soil? *Ecological Engineering*, 111, 125-133. doi: 10.1016/j.ecoleng.2017.11.019
- Beaulieu, M. (2016). *Guide d'intervention: protection des sols et réhabilitation des terrains contaminés*. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques.
- Burghardt, K. T., Tallamy, D. W. et Gregory Shriver, W. (2009). Impact of native plants on bird and butterfly biodiversity in suburban landscapes. *Conservation Biology*, 23(1), 219-224. doi: 10.1111/j.1523-1739.2008.01076.x
- Campbell, K. M. et Nordstrom, D. K. (2014). Arsenic speciation and sorption in natural environments. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 79(1), 185-216.
- Cao, X., Ma, L. Q. et Shiralipour, A. (2003). Effects of compost and phosphate amendments on arsenic mobility in soils and arsenic uptake by the hyperaccumulator, *Pteris vittata* L. *Environmental Pollution*, 126(2), 157-167.
- Catford, J. A., Daehler, C. C., Murphy, H. T., Sheppard, A. W., Hardesty, B. D., Westcott, D. A., . . . Hulme, P. E. (2012). The intermediate disturbance hypothesis and plant invasions: Implications for species richness and management. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 14(3), 231-241. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2011.12.002>
- Chaney, R. L., Angle, J. S., Broadhurst, C. L., Peters, C. A., Tappero, R. V. et Sparks, D. L. (2007). Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *Journal of Environmental Quality*, 36(5), 1429-1443.
- Chaudhry, Q., Blom-Zandstra, M., Gupta, S. K. et Joner, E. (2005). Utilising the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment (15 pp). *Environmental Science and Pollution Research*, 12(1), 34-48.
- Chen, S.-H. et Aitken, M. D. (1999). Salicylate stimulates the degradation of high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas saccharophila* P15. *Environmental science & technology*, 33(3), 435-439.
- Cherian, S. et Oliveira, M. M. (2005). Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environmental science & technology*, 39(24), 9377-9390.

- Chirakkara, R. A., Cameselle, C. et Reddy, K. R. (2016). Assessing the applicability of phytoremediation of soils with mixed organic and heavy metal contaminants. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 15(2), 299-326. doi: 10.1007/s11157-016-9391-0
- Cofield, N., Banks, M. K. et Schwab, A. P. (2008). Lability of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Chemosphere*, 70(9), 1644-1652.
- Dalvi, A. A. et Bhalerao, S. A. (2013). Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. *Annals of Plant Sciences*, 2(09), 362-368.
- Dams, R., Paton, G. et Killham, K. (2007). Rhizoremediation of pentachlorophenol by *Sphingobium chlorophenolicum* ATCC 39723. *Chemosphere*, 68(5), 864-870.
- Di Lonardo, S., Capuana, M., Arnetoli, M., Gabbrielli, R. et Gonnelli, C. (2011). Exploring the metal phytoremediation potential of three *Populus alba* L. clones using an in vitro screening. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(1), 82-90.
- Dobler, R., Saner, M. et Bachofen, R. (2000). Population changes of soil microbial communities induced by hydrocarbon and heavy metal contamination. *Bioremediation Journal*, 4(1), 41-56.
- Dobran, S. et Zagury, G. J. (2006). Arsenic speciation and mobilization in CCA-contaminated soils: Influence of organic matter content. *Science of the total environment*, 364(1), 239-250.
- Ebbs, S., Bushey, J., Poston, S., Kosma, D., Samiotakis, M. et Dzombak, D. (2003). Transport and metabolism of free cyanide and iron cyanide complexes by willow. *Plant, Cell and Environment*, 26(9), 1467-1478. doi: 10.1046/j.0016-8025.2003.01069.x
- Ernst, W. (1996). Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. *Applied geochemistry*, 11(1-2), 163-167.
- Ewel, J. J. et Putz, F. E. (2004). A place for alien species in ecosystem restoration. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(7), 354-360.
- FAO. (2014). World Reference Base for Soil Resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps, World Soil Resources Reports No 106, FAO, Rome. 191 pp.
- FAO and ITPS. (2015). Status of the World's Soil Resources (SWSR) – Main Report. Food and Agriculture Organization of the United Nations and Intergovernmental Technical Panel on Soils, Rome, Italy.
- Feng, N.-X., Yu, J., Zhao, H.-M., Cheng, Y.-T., Mo, C.-H., Cai, Q.-Y., . . . Wong, M.-H. (2017). Efficient phytoremediation of organic contaminants in soils using plant–endophyte partnerships. *Science of the Total Environment*, 583, 352-368.
- Ferreira, M. M. (2001). Polycyclic aromatic hydrocarbons: a QSPR study. *Chemosphere*, 44(2), 125-146.
- Ferro, A. M., Rock, S. A., Kennedy, J., Herrick, J. J. et Turner, D. L. (1999). Phytoremediation of soils contaminated with wood preservatives: greenhouse and field evaluations. *International Journal of Phytoremediation*, 1(3), 289-306.
- Fessenden, R. et Sutherland, B. (1979). The effect of excess soil copper on the growth of black spruce and green alder seedlings. *Botanical Gazette*, 140, S82-S87.
- Fitter, A. H. et Hay, R. K. (2012). *Environmental physiology of plants*. Academic press.
- French, C. J., Dickinson, N. M. et Putwain, P. D. (2006). Woody biomass phytoremediation of contaminated brownfield land. *Environmental pollution*, 141(3), 387-395.
- Frostegård, Å., Tunlid, A. et Bååth, E. (1993). Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(11), 3605-3617.
- Giordani, C., Cecchi, S. et Zanchi, C. (2005). Phytoremediation of soil polluted by nickel using agricultural crops. *Environmental Management*, 36(5), 675-681.
- Gomez, V. et Callao, M. (2006). Chromium determination and speciation since 2000. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 25(10), 1006-1015.

- Gonzaga, M. I. S., Ma, L. Q., Santos, J. A. G. et Matias, M. I. S. (2009). Rhizosphere characteristics of two arsenic hyperaccumulating *Pteris* ferns. *Science of the total environment*, 407(16), 4711-4716.
- Gorelova, S. V. et Frontasyeva, M. V. (2017). The Use of Higher Plants in Biomonitoring and Environmental Bioremediation. Dans A. A. Ansari, S. S. Gill, R. Gill, G. R. Lanza & L. Newman (dir.), *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants, Volume 5* (p. 103-155). Cham: Springer International Publishing.
- Gray, E. et Smith, D. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(3), 395-412.
- Grenier, V., Pitre, F. E., Guidi Nissim, W. et Labrecque, M. (2015). Genotypic differences explain most of the response of willow cultivars to petroleum-contaminated soil. *Trees*, 29(3), 871-881. doi: 10.1007/s00468-015-1168-5
- Grime, J. P. (1977). Evidence for the Existence of Three Primary Strategies in Plants and Its Relevance to Ecological and Evolutionary Theory. *The American Naturalist*, 111(982), 1169-1194. doi: 10.1086/283244
- Guidi, W., Kadri, H. et Labrecque, M. (2012). Establishment techniques to using willow for phytoremediation on a former oil refinery in southern Quebec: achievements and constraints. *Chemistry and Ecology*, 28(1), 49-64.
- Guthrie - Nichols, E., Grasham, A., Kazunga, C., Sangaiah, R., Gold, A., Bortiatynski, J., . . . Hatcher, P. (2003). The effect of aging on pyrene transformation in sediments. *Environmental toxicology and chemistry*, 22(1), 40-49.
- Hammer, D., Kayser, A. et Keller, C. (2003). Phytoextraction of Cd and Zn with *Salix viminalis* in field trials. *Soil Use and Management*, 19(3), 187-192.
- He, Y., Xu, J., Ma, Z., Wang, H. et Wu, Y. (2007). Profiling of PLFA: implications for nonlinear spatial gradient of PCP degradation in the vicinity of *Lolium perenne* L. roots. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(5), 1121-1129.
- Heale, E. et Ormrod, D. (1982). Effects of nickel and copper on *Acer rubrum*, *Cornus stolonifera*, *Lonicera tatarica*, and *Pinus resinosa*. *Canadian Journal of Botany*, 60(12), 2674-2681.
- Hechmi, N., Aissa, N. B., Abdenaceur, H. et Jedidi, N. (2014a). Phytoremediation efficiency of a PCP-contaminated soil using four plant species as mono-and mixed cultures. *International journal of phytoremediation*, 16(12), 1241-1256.
- Hechmi, N., Aissa, N. B., Abdenaceur, H. et Jedidi, N. (2014b). Evaluating the phytoremediation potential of *Phragmites australis* grown in pentachlorophenol and cadmium co-contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(2), 1304-1313.
- Hechmi, N., Aissa, N. B., Abdennaceur, H. et Jedidi, N. (2013). Phytoremediation potential of maize (*Zea mays* L.) in co-contaminated soils with pentachlorophenol and cadmium. *International journal of phytoremediation*, 15(7), 703-713.
- Hirsh, S., Compton, H., Matey, D., Wrobel, J. et Schneider, W. (2003). Five - Year Pilot Study: Aberdeen Proving Ground, Maryland. *Phytoremediation: Transformation and control of contaminants*, 635-659.
- Hoffmann, A. A. et Parsons, P. A. (1991). *Evolutionary genetics and environmental stress*. Oxford University Press.
- Hydro-Québec. (2010). ACC-PA Agent de préservation pour poteaux de bois. Repéré à <http://www.hydroquebec.com/innovation/fr/pdf/2010G080-25F-CCA-PA.pdf>
- Ikhuoria, E., Urunmatsoma, S. et Okieimen, F. (2010). Preliminary investigation of chemical fractionation and heavy metal accumulation in plant maize (*Zea mays*) grown on chromated copper arsenate (CCA) contaminated soil amended with poultry droppings. *African Journal of Biotechnology*, 9(18), 2675-2682.

- INERIS. (2011). Pentachlorophénol. Repéré à www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/2818
- Kassel, A. G., Ghoshal, D. et Goyal, A. (2002). Phytoremediation of trichloroethylene using hybrid poplar. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 8, 3-10.
- Kertulis-Tartar, G., Ma, L., Tu, C. et Chirenje, T. (2006). Phytoremediation of an arsenic-contaminated site using *Pteris vittata* L.: a two-year study. *International Journal of Phytoremediation*, 8(4), 311-322.
- Khodadoust, A. P., Suidan, M. T., Acheson, C. M. et Brenner, R. C. (1999). Solvent extraction of pentachlorophenol from contaminated soils using water-ethanol mixtures. *Chemosphere*, 38(11), 2681-2693.
- Kim, Y. B., Ky, Y. P., Chung, Y., Oh, K. C. et Buchanan, B. B. (2004). Phytoremediation of anthracene contaminated soils by different plant species. *Journal of Plant Biology*, 47(3), 174-178.
- Kirk, J. L., Klironomos, J. N., Lee, H. et Trevors, J. T. (2002). Phytotoxicity assay to assess plant species for phytoremediation of petroleum-contaminated soil. *Bioremediation Journal*, 6(1), 57-63. doi: 10.1080/10889860290777477
- Kuo, C. w. et Genthner, B. (1996). Effect of added heavy metal ions on biotransformation and biodegradation of 2-chlorophenol and 3-chlorobenzoate in anaerobic bacterial consortia. *Applied and environmental microbiology*, 62(7), 2317-2323.
- Lee, S., El-azeem, S. A., Kim, M., Lim, J., & Lee, S. (2011). Risk Assessment and Phytoremediation Potential of Native Plant Species for Soils Contaminated with Cr, Cu and As in Gangwon Province, Korea. *Journal of Environmental Science and Pollution Research*, 23(1), 22-33.
- Li, Z., Wu, L., Zhang, H., Luo, Y. et Christie, P. (2015). Effects of soil drying and wetting-drying cycles on the availability of heavy metals and their relationship to dissolved organic matter. *Journal of soils and sediments*, 15(7), 1510-1519.
- Licinio, A. (2017). Phyto-extraction du zinc et de l'arsenic par différentes espèces de plantes.
- Lin, Q., Wang, Z., Ma, S. et Chen, Y. (2006). Evaluation of dissipation mechanisms by *Lolium perenne* L, and *Raphanus sativus* for pentachlorophenol (PCP) in copper co-contaminated soil. *Science of the total environment*, 368(2), 814-822.
- Lin, Z. et Puls, R. (2000). Adsorption, desorption and oxidation of arsenic affected by clay minerals and aging process. *Environmental Geology*, 39(7), 753-759.
- Lu, X.-j., Diao, C.-x., Zou, Y.-t. et Huang, G.-f. (2010). The Potential of *Rhus typhina* for Phytoremediation of Pb-Contaminated Soils and the Growth with the Aid of Chitosan Addition [J]. *Northern Horticulture*, 14, 011.
- Maksymiec, W. (1998). Effect of copper on cellular processes in higher plants. *Photosynthetica*, 34(3), 321-342.
- Mansfield, M. R., Pope, N. S., Mittelhauser, G. H. et Rajakaruna, N. (2014). Diversity and soil-tissue elemental relations of vascular plants of Callahan Mine, Brooksville, Maine, U.S.A. *Rhodora*, 116(967), 283-322. doi: 10.3119/13-23
- Marmioli, M., Pietrini, F., Maestri, E., Zacchini, M., Marmioli, N. et Massacci, A. (2011). Growth, physiological and molecular traits in Salicaceae trees investigated for phytoremediation of heavy metals and organics. *Tree physiology*, 31(12), 1319-1334.
- Marmioli, N., Maestri, E., Antonioli, G., Conte, C., Monciardini, P., Marmioli, M. et Mucchino, C. (1999). Application of synchrotron radiation X-ray fluorescence (μ -SRXF) and X-ray microanalysis (SEM/EDX) for the quantitative and qualitative evaluation of trace element accumulation in woody plants. *International Journal of Phytoremediation*, 1(2), 169-187.
- Martin, L. J. et Blossey, B. (2013). The runaway weed: costs and failures of *Phragmites australis* management in the USA. *Estuaries and Coasts*, 36(3), 626-632.

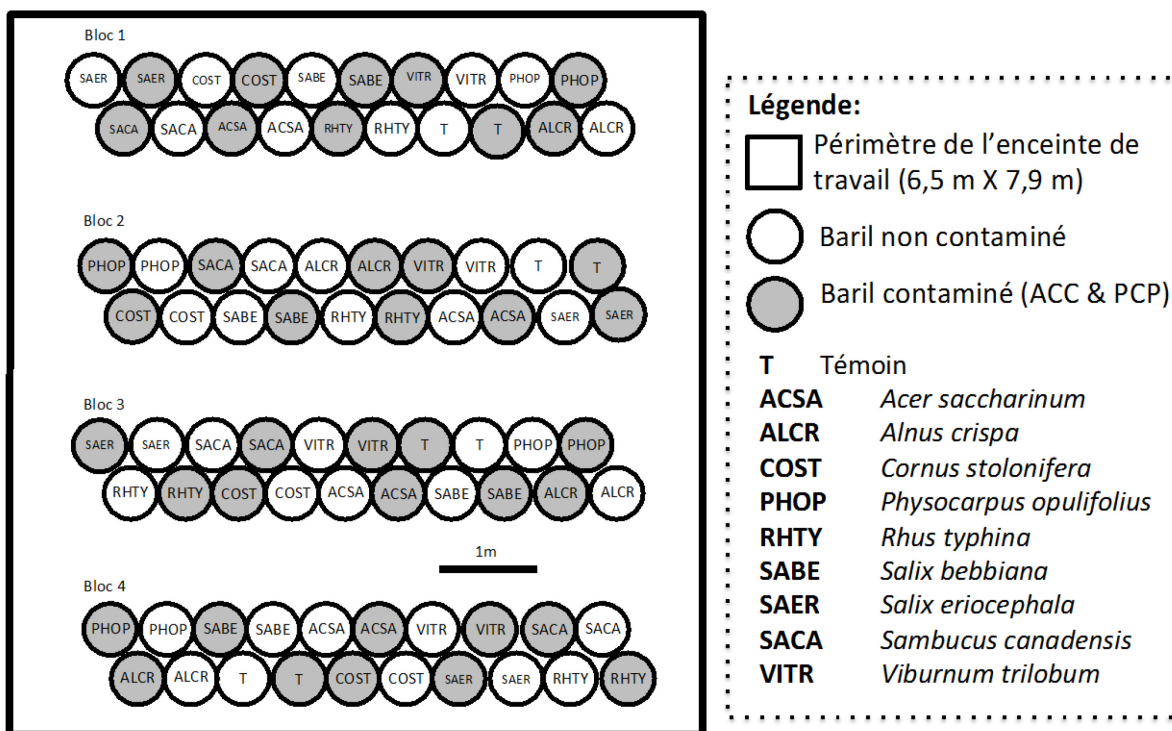
- McCutcheon, S. C. et Schnoor, J. L. (2003). *Phytoremediation : transformation and control of contaminants*. Hoboken, N.J.: Hoboken, N.J. : Wiley-Interscience.
- Meagher, R. B. (2000). Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Current opinion in plant biology*, 3(2), 153-162.
- Meiman, P. J., Davis, N. R., Brummer, J. E. et Ippolito, J. A. (2012). Riparian shrub metal concentrations and growth in amended fluvial mine tailings. *Water, Air, and Soil Pollution*, 223(4), 1815-1828. doi: 10.1007/s11270-011-0986-3
- Miller, E. K. et Dyer, W. E. (2002). Phytoremediation of pentachlorophenol in the crested wheatgrass (*Agropyron cristatum* × *desertorum*) rhizosphere. *International Journal of Phytoremediation*, 4(3), 223-238.
- Mills, T., Arnold, B., Sivakumaran, S., Northcott, G., Vogeler, I., Robinson, B., . . . Leonil, D. (2006). Phytoremediation and long-term site management of soil contaminated with pentachlorophenol (PCP) and heavy metals. *Journal of Environmental Management*, 79(3), 232-241.
- Mol, C. (2016). *Bioremediation of contaminated soils from mine sites using native plants in Northwestern Ontario*.
- Mosseler, A., Major, J. et Labrecque, M. (2014). Growth and survival of seven native willow species on highly disturbed coal mine sites in eastern Canada. *Canadian Journal of Forest Research*, 44(4), 340-349.
- Mosseler, A. et Major, J. E. (2017). Phytoremediation efficacy of *Salix discolor* and *S. eriocephala* on adjacent acidic clay and shale overburden on a former mine site: Growth, soil, and foliage traits. *Forests*, 8(12). doi: 10.3390/f8120475
- Nguyen, T. X. T., Amyot, M. et Labrecque, M. (2017). Differential effects of plant root systems on nickel, copper and silver bioavailability in contaminated soil. *Chemosphere*, 168, 131-138.
- Niazi, N. K., Bibi, I., Fatimah, A., Shahid, M., Javed, M. T., Wang, H., . . . Shakoor, M. B. (2017). Phosphate-assisted phytoremediation of arsenic by *Brassica napus* and *Brassica juncea*: Morphological and physiological response. *International Journal of Phytoremediation*, 19(7), 670-678. doi: 10.1080/15226514.2016.1278427
- Nkongolo, K. K., Narendrula-Kotha, R., Kalubi, K., Rainville, S. et Michael, P. (2017). High level of nickel tolerance and metal exclusion identified in silver maple (*Acer saccharinum*). *Chemistry and Ecology*, 33(9), 795-806. doi: 10.1080/02757540.2017.1376664
- Oag-bvg. (2012) Printemps 2012 – Rapport du commissaire à l'environnement et au développement durable. Bureau du vérificateur général du Canada. Repéré à : http://www.oag-bvg.gc.ca/internet/Francais/parl_cesd_201205_03_f_36775.html
- Padmavathiamma, P. K. et Li, L. Y. (2007). Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. *Water, Air, and Soil Pollution*, 184(1-4), 105-126. doi: 10.1007/s11270-007-9401-5
- Pajević, S., Borišev, M., Nikolić, N., Krstić, B., Pilipović, A. et Orlović, S. (2009). Phytoremediation capacity of poplar (*Populus* spp.) and willow (*Salix* spp.) clones in relation to photosynthesis. *Archives of Biological Sciences*, 61(2), 239-247.
- Parrish, Z. D., Banks, M. K. et Schwab, A. P. (2005). Assessment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon impacted soil. *Environmental Pollution*, 137(2), 187-197.
- Pätsikkä, E., Kairavuo, M., Šeršen, F., Aro, E.-M. et Tyystjärvi, E. (2002). Excess copper predisposes photosystem II to photoinhibition in vivo by outcompeting iron and causing decrease in leaf chlorophyll. *Plant physiology*, 129(3), 1359-1367.
- Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56, 15-39.
- Pitre, F., Teodorescu, T. et Labrecque, M. (2010). Brownfield phytoremediation of heavy Metals using *Brassica* and *Salix* supplemented with EDTA: results of the first growing season. *Journal of Environmental Science and Engineering*, 4(9), 51.

- Puckett, E. E., Serapiglia, M. J., DeLeon, A. M., Long, S., Minocha, R. et Smart, L. B. (2012). Differential expression of genes encoding phosphate transporters contributes to arsenic tolerance and accumulation in shrub willow (*Salix* spp.). *Environmental and Experimental Botany*, 75, 248-257. doi: 10.1016/j.envexpbot.2011.07.008
- Pulford, I. et Watson, C. (2003). Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environment international*, 29(4), 529-540.
- Punshon, T. (1996). *Heavy metal resistance in Salix*. (Liverpool John Moores University).
- Ramamurthy, A. S. et Memarian, R. (2012). Phytoremediation of mixed soil contaminants. *Water, Air, and Soil Pollution*, 223(2), 511-518. doi: 10.1007/s11270-011-0878-6
- Reynier, N., Blais, J. F., Mercier, G. et Besner, S. (2014). Decontamination of metals, pentachlorophenol, and polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans polluted soil in alkaline conditions using an amphoteric biosurfactant. *Environmental technology*, 35(2), 177-186.
- Rosselli, W., Keller, C. et Boschi, K. (2003). Phytoextraction capacity of trees growing on a metal contaminated soil. *Plant and Soil*, 256(2), 265-272. doi: 10.1023/A:1026100707797
- Ruso, J., Zapata, J., Hernandez, M. et Ojeda, M. A. (2001). Toxic metals accumulation and total soluble phenolics in sunflower and tobacco plants. *Minerva biotecnologica*, 13(2), 93.
- Sandrin, T. R., Chech, A. M. et Maier, R. M. (2000). A rhamnolipid biosurfactant reduces cadmium toxicity during naphthalene biodegradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(10), 4585-4588.
- Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. et Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International*, 31(5), 739-753. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003>
- Shufeng, C. Y. S. X. W. et Yujian, L. J. S. (2012). Growth and Heavy Metal Uptake of 15 Plant Species Grown in Lead/Zinc Mine Tailings. *Scientia Silvae Sinicae*, 12, 006.
- Simon, L., Vincze, G., Varga, C., Szabó, B. et Koncz, J. (2012). Passive phytoextraction of toxic elements from sewage sludge compost by *Salix viminalis* energy plants. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 47(2), 285-291. doi: 10.1556/APhyt.47.2012.2.9
- Singer, A. C., Bell, T., Heywood, C. A., Smith, J. et Thompson, I. P. (2007). Phytoremediation of mixed-contaminated soil using the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*: evidence of histidine as a measure of phytoextractable nickel. *Environmental Pollution*, 147(1), 74-82.
- Sivakumaran, S., Clothier, B. et McNaughton, D. (2004). Bioremediation of soils contaminated with organic compounds.
- Siwik, E. I., Campbell, L. M. et Mierle, G. (2010). Distribution and trends of mercury in deciduous tree cores. *Environmental pollution*, 158(6), 2067-2073.
- Sø, H. U. (2011). *Adsorption of arsenic and phosphate onto the surface of calcite as revealed by batch experiments and surface complexation modelling*. Technical University of Denmark, Department of Environmental Engineering.
- Tsetimi, G. O. et Okieimen, F. E. (2011). Chelate-assisted phytoextraction of metals from chromated copper arsenate (CCA) contaminated soil. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3(8), 214-224.
- Tu, C., Ma, L. Q. et Bondada, B. (2002). Arsenic accumulation in the hyperaccumulator Chinese brake and its utilization potential for phytoremediation. *Journal of Environmental Quality*, 31(5), 1671-1675.
- Ucisik, A. S. et Trapp, S. (2008). Uptake, removal, accumulation, and phytotoxicity of 4-chlorophenol in willow trees. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 54(4), 619-627.
- Urunmatsoma, S., Ikhuoria, E. et Okieimen, F. (2010). Chemical fractionation and heavy metal accumulation in maize (*Zea mays*) grown on chromated copper arsenate (CCA) contaminated

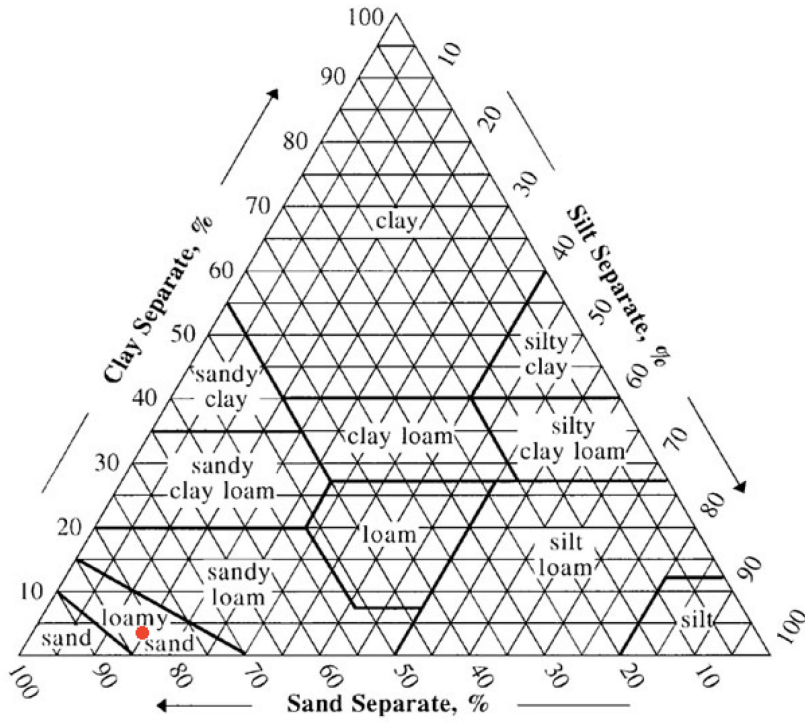
- soil amended with cow dung manure. *International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research*, 1(6), 65-73.
- USDA. (2018a). United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, Plants Database. Repéré à <https://www.plants.sc.egov.usda.gov/java/>
- USDA. (2018b). United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, Soil Texture Calculator. Repéré à https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/?cid=nrcs142p2_054167
- Usman, A. R., Lee, S. S., Awad, Y. M., Lim, K. J., Yang, J. E. et Ok, Y. S. (2012). Soil pollution assessment and identification of hyperaccumulating plants in chromated copper arsenate (CCA) contaminated sites, Korea. *Chemosphere*, 87(8), 872-878.
- Utmazian, M. N. D. S., Wieshammer, G., Vega, R. et Wenzel, W. W. (2007). Hydroponic screening for metal resistance and accumulation of cadmium and zinc in twenty clones of willows and poplars. *Environmental Pollution*, 148(1), 155-165.
- Uwumarongie-Ilori, G. E. et Okieimen, F. E. (2011). Phytoremediation of chromated copper arsenate contaminated soil by maize (*Zea mays* L.). *Journal-of-Biodiversity-and-Environmental-Sciences-JBES*, 1(2), 1-6.
- Warner, J. E. et Solomon, K. R. (1990). Acidity as a factor in leaching of copper, chromium and arsenic from CCA - treated dimension lumber. *Environmental Toxicology and chemistry*, 9(11), 1331-1337.
- Weih, M. (2001). Evidence for increased sensitivity to nutrient and water stress in a fast-growing hybrid willow compared with a natural willow clone. *Tree Physiology*, 21(15), 1141-1148. doi: 10.1093/treephys/21.15.1141
- Wick, L. Y., Remer, R., Würz, B., Reichenbach, J., Braun, S., Schäfer, F. et Harms, H. (2007). Effect of fungal hyphae on the access of bacteria to phenanthrene in soil. *Environmental science & technology*, 41(2), 500-505.
- Widdel, F. et Rabus, R. (2001). Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. *Current opinion in biotechnology*, 12(3), 259-276.
- Wilson, B., Braithwaite, A. et Brian Pyatt, F. (2005). An evaluation of procedures for the digestion of soils and vegetation from areas with metalliferous pollution. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 87(3), 335-344.
- Xin-Chun, H. (2010). Effect of Cadmium in Soil on Growth of *Rhus typhina*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 34, 102.
- Yu, C., Kamboj, S., Wang, C. et Cheng, J.-J. (2015). Data collection handbook to support modeling impacts of radioactive material in soil and building Structures: Argonne National Lab.(ANL), Argonne, IL (United States).
- Zacchini, M., Pietrini, F., Mugnozza, G. S., Iori, V., Pietrosanti, L. et Massacci, A. (2009). Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. *Water, Air, and Soil Pollution*, 197(1-4), 23-34.
- Zagury, G. J., Samson, R. et Deschênes, L. (2003). Occurrence of Metals in Soil and Ground Water Near Chromated Copper Arsenate-Treated Utility Poles. *Journal of Environmental Quality*, 32(2), 507-514. doi: 10.2134/jeq2003.5070
- Zhao, L., Guo, W., Li, Q., Li, H., Zhao, W. et Cao, X. (2017). *Capabilities of Seven Species of Aquatic Macrophytes for Phytoremediation of Pentachlorophenol Contaminated Sediment*. Communication présentée IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- Zhao, L., Zhu, C., Gao, C., Jiang, J., Yang, J. et Yang, S. (2011). Phytoremediation of pentachlorophenol-contaminated sediments by aquatic macrophytes. *Environmental Earth Sciences*, 64(2), 581.
- Zhu, B.-Z., Shechtman, S. et Chevion, M. (2001). Synergistic cytotoxicity between pentachlorophenol and copper in a bacterial model. *Chemosphere*, 45(4-5), 463-470.

Annexe 1: Design expérimental

Design en split-plot en quatre blocs, chaque rond représente une colonne. Les blancs sont non contaminés et les gris sont contaminés. Un code à quatre lettres représente chaque espèce, la lettre T représente les témoins non plantés.



Annexe 2: Texture du substrat expérimental : Sable loameux



Source : USDA (2018b)

Annexe 3: Protocole granulométrique-hydrométrique

(Méthode modifiée à partir de: Bouyoucos, 1962; Gee et Bauder, 1986; Karkanis *et al.*, 1991; Asworth *et al.*, 2001).

On utilise la méthode hydrométrique basée sur les principes suivants: La vitesse de sédimentation d'une particule en suspension est proportionnelle à la masse et à la taille de la particule (le sable sédimente très rapidement, l'argile très lentement). La densité de la suspension (poids par volume) est directement proportionnelle à la quantité de particules de sol qui sont en suspension.

Faire sécher les échantillons au four 70°C. Tamiser les échantillons à l'aide d'un tamis 2 mm (on peut aussi tamiser avant de sécher). Préparer une solution de Calgon (hexamétaphosphate de sodium) de 2% (20g/l de H₂O). Peser 50g de sol. Verser les 50g de sol et 300ml de la solution de Calgon dans un pot Masson de 500ml. Préparer un échantillon de contrôle sans ajouter de sol (300ml de la solution de Calgon seulement). Mélanger bien et laisser reposer au moins 24 hres + agitation sur l'agitateur. Transférer la suspension au complet dans un cylindre gradué de 1000ml...s'assurer de transférer toutes les particules en lavant avec flacon laveur (eau distillée). Compléter le volume dans le cylindre gradué à 1L avec de l'eau distillée. Mélanger soigneusement la solution à l'aide d'une tige à plonger. Dès que la tige est retirée (temps zéro), commencer immédiatement à compter le temps en secondes. Après 20 secondes, disposer délicatement l'hydromètre (ASTM 152H) dans le cylindre et laisser flotter. Prendre les lectures sur la tige graduée de l'hydromètre à la partie supérieure du ménisque. S'il y a lieu, ajouter quelques gouttes d'octanol pour éliminer la mousse qui se forme à la surface de la solution. Noter la lecture pour chaque échantillon aux intervalles de 40s et 2h (prendre chaque fois une mesure dans la solution contrôle). Noter la température de la solution (sans remuer) après chaque lecture (pas nécessaire pour la solution contrôle). La lecture du contrôle devrait être assez stable dans le temps si la température le demeure.

Corrections de température: Pour chaque degré au-dessus de 20°C ajouter 36 g/l à la valeur indiquée par l'hydromètre. Pour chaque degré, au-dessous soustraire 36 g/l + hydromètre.

Calculs des fractions granulométriques (%):

Fraction de sable = 100% - lecture corrigée* de l'hydromètre à 40s x 100

50g (poids sec du sol)

Fraction d'argile = lecture corrigée* de l'hydromètre à 2h x 100 50g (poids sec du sol)

Fraction de limon = 100% - fraction de sable – fraction d'argile

* Lecture corrigée: basée sur 1) la standardisation de l'hydromètre (selon le témoin) et 2) sur la température * la lecture corrigée sur l'hydromètre = densité du sol en suspension (g/L) - densité de la solution témoin (g/L)

Annexe 4: Ensemble des résultats

Tableau 1: Synthèse des réponses physiologiques des traitements

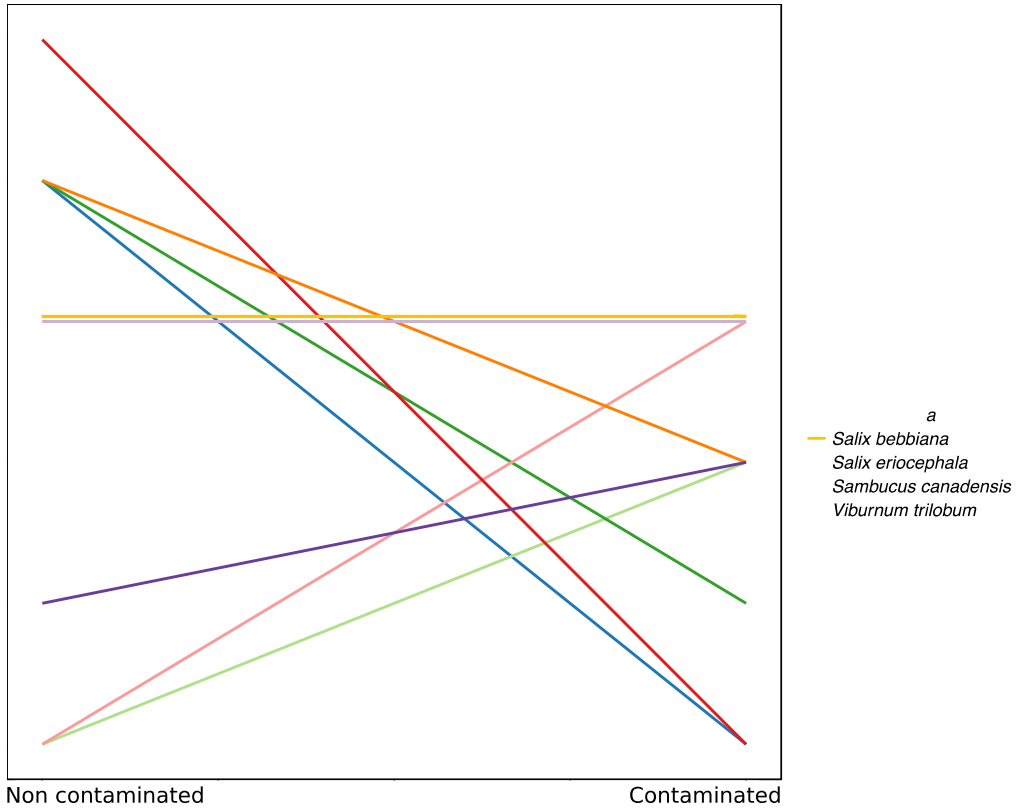
Paramètres	Espèces	Traitements					
		Non contaminé			Contaminé		
		Moyenne	SE		Moyenne	SE	
Photosynthèse ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$)	<i>A. crispa</i>	4,13	± 2,64	e	0,73	± 1,89	ab
	<i>A. saccharinum</i>	6,50	± 2,35	cde	-0,32	± 2,13	b
	<i>C. stolonifera</i>	5,68	± 3,11	de	2,22	± 2,76	ab
	<i>P. opulifolius</i>	9,32	± 3,49	bc	3,75	± 3,84	a
	<i>R. typhina</i>	16,83	± 5,45	a	0,22	± 2,24	b
	<i>S. bebbiana</i>	8,77	± 4,10	bcd	1,52	± 3,11	ab
	<i>S. canadensis</i>	8,52	± 5,48	bcd	3,49	± 3,67	a
	<i>S. eriocephala</i>	10,21	± 4,31	b	2,18	± 2,67	ab
	<i>V. trilobum</i>	4,65	± 2,81	e	1,11	± 2,15	ab
Conductance ($\text{mmol H}_2\text{O} / \text{m}^2/\text{s}$)	<i>A. crispa</i>	47,75	± 27,72	c	15,61	± 11,98	b
	<i>A. saccharinum</i>	86,99	± 39,71	bc	15,01	± 8,52	b
	<i>C. stolonifera</i>	60,70	± 25,87	c	32,17	± 23,42	ab
	<i>P. opulifolius</i>	118,62	± 57,13	b	45,61	± 35,28	ab
	<i>R. typhina</i>	271,37	± 155,18	a	17,69	± 14,81	ab
	<i>S. bebbiana</i>	129,42	± 36,79	b	37,11	± 23,62	ab
	<i>S. canadensis</i>	120,29	± 73,55	b	51,95	± 76,82	a
	<i>S. eriocephala</i>	128,04	± 63,11	b	36,71	± 26,33	ab
	<i>V. trilobum</i>	50,15	± 22,37	c	25,62	± 20,76	ab
Fv/Fm	<i>A. crispa</i>	0,718	± 0,097	a	0,697	± 0,098	
	<i>A. saccharinum</i>	0,650	± 0,077	b	0,665	± 0,109	
	<i>C. stolonifera</i>	0,680	± 0,052	ab	0,655	± 0,122	
	<i>P. opulifolius</i>	0,703	± 0,058	ab	0,661	± 0,131	
	<i>R. typhina</i>	0,702	± 0,071	ab	0,715	± 0,080	
	<i>S. bebbiana</i>	0,679	± 0,084	ab	0,713	± 0,098	
	<i>S. canadensis</i>	0,683	± 0,071	ab	0,628	± 0,112	
	<i>S. eriocephala</i>	0,690	± 0,083	ab	0,700	± 0,095	
	<i>V. trilobum</i>	0,699	± 0,085	ab	0,627	± 0,109	
Survie (Jour)	<i>A. crispa</i>	40	± 18	ab	37	± 9	
	<i>A. saccharinum</i>	55	± 0	a	44	± 19	
	<i>C. stolonifera</i>	55	± 0	a	37	± 11	
	<i>P. opulifolius</i>	25	± 16	b	17	± 5	
	<i>R. typhina</i>	55	± 0	a	38	± 20	
	<i>S. bebbiana</i>	55	± 0	a	47	± 12	
	<i>S. canadensis</i>	39	± 6	ab	36	± 10	
	<i>S. eriocephala</i>	55	± 0	a	37	± 10	
	<i>V. trilobum</i>	55	± 0	a	47	± 17	

Fréquence développement des racines N=4(%)		
<i>A. crispa</i>	25	50
<i>A. saccharinum</i>	100	25
<i>C. stolonifera</i>	100	0
<i>P. opulifolius</i>	75	50
<i>R. typhina</i>	100	0
<i>S. bebbiana</i>	75	100
<i>S. canadensis</i>	100	50
<i>S. eriocephala</i>	100	50
<i>V. trilobum</i>	25	25

Tableau 2 : Concentration des éléments traces dans les tiges.

	Cr (<i>P</i> =0,0618) (mg/kg)		Cu (<i>P</i> <0,0001) (mg/kg)		As (<i>P</i> =0,0004) (mg/kg)			
<i>A. crispa</i>	1,95	± 0,91	62,24	± 20,45	ab	2,60	± 3,25	b
<i>A. saccharinum</i>	3,37	± 4,37	1,41	± 0,39	e	7,35	± 5,94	b
<i>C. stolonifera</i>	2,27	± 2,44	16,38	± 5,80	cd	3,35	± 0,98	b
<i>R. typhina</i>	4,36	± 3,39	92,11	± 31,56	a	2,41	± 1,54	b
<i>S. bebbiana</i>	3,42	± 2,00	44,72	± 24,60	abc	4,65	± 1,24	b
<i>S. eriocephala</i>	9,43	± 0,14	19,77	± 1,02	bcd	15,37	± 0,20	a
<i>V. trilobum</i>	3,14	± 1,38	10,05	± 6,53	d	3,86	± 2,05	b

Annexe 5: Graphique du rang des espèces par traitement



Annexe 6: Photos de l'expérimentation

Le substrat était composé d'une part de roche 1/4, une part de sable, trois parts de terreau de culture et cinq parts de poussière de roche (0-3/4).



Nous déposons, le tube de PVC et le tube d'acrylique au centre du baril. Nous versons un seau de roche $\frac{3}{4}$ dans le fond. Les quatre ingrédients du substrat étaient mélangés dans une bétonnière, et transférés dans les barils.



L'extrémité des tuyaux de PVC servant au drainage était coupée en angle de 45°, puis un grillage était fixé afin de bloquer le passage des matières solides.



Les barils étaient remplis à 10 centimètres du rebord après compaction. La compaction se faisait en balançant le baril trois fois.







L'irrigation se faisait en pompant l'eau du fond du baril vers la surface. Une pompe distincte était utilisée pour chaque traitement. Au besoin, l'irrigation se faisait à l'eau claire.



Images present le 14 août 2017 à la fin de l'expérience pour un des quatre réplicats par espèces et par traitements. À gauche le traitement non contaminé, à droite le traitement contaminé. De haut en bas : *Acer saccharinum*, *Alnus crispa*, *Cornus stolonifera*, *Salix bebbiana*, *Salix eriocephala*, *Rhus typhina* et *Viburnum trilobum*. *Physocarpus opulifolius* et *Sambucus canadensis* ne sont pas présents, car tous les individus contaminés étaient morts et retiré de l'expérience.





Cours d'entreposage de poteaux électriques à Drummondville avec exemple de technosol.

