

Université de Montréal

Complémentarité fonctionnelle en phytoremédiation dans un sol à contamination mixte

Par Anne Lachapelle

Département des sciences biologiques (Institut de recherche en biologie végétale)

Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)

en sciences biologiques

Mai, 2019

© Anne Lachapelle, 2019

Université de Montréal

Département des sciences biologiques - Institut de recherche en biologie végétale,

Faculté des arts et des sciences

Ce mémoire intitulé

Complémentarité fonctionnelle en phytoremédiation dans un sol à contamination mixte

Présenté par

Anne Lachapelle

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Michel Labrecque

Président-rapporteur

Jacques Brisson

Directeur de recherche

François Courchesne

Codirecteur

Frédéric Pitre

Codirecteur

Danielle Dagenais

Membre du jury

Résumé

Les sols à contamination mixte, soit aux composés organiques et inorganiques, représentent environ 40% de tous les sites contaminés. La phytoremédiation est une technologie verte prometteuse permettant de décontaminer et de restaurer des sites à contamination mixte. L'objectif du projet était d'évaluer le potentiel de phytoremédiation d'une combinaison entre une plante arbustive et une espèce herbacée comparativement à celle de ces espèces en monocultures. Une expérience en pot avec une plante ligneuse, *Salix interior*, et une plante herbacée, *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* ou *Festuca arundinacea*, et des témoins non plantés a été conduite dans un sol à contamination mixte au pentachlorophénol (PCP) et à l'arséniate de cuivre chromaté (ACC) pendant 120 jours. Des espèces indigènes ou naturalisées aux traits fonctionnels distincts ont été choisies pour leurs aptitudes de phytoremédiation potentiellement différentes et complémentaires. La biomasse aérienne et racinaire des plantes dans tous les pots, les concentrations d'éléments traces dans les tissus des plantes et les concentrations d'éléments traces et de PCP dans le sol contaminé ont été mesurées à la fin de l'expérience. La contamination et la polyculture n'ont pas affecté la production de biomasse des espèces, sauf dans le cas du traitement *S. interior* + *F. arundinacea* (SF). La production de biomasse des racines de *F. arundinacea* fut supérieure dans le sol contaminé. La polyculture SF a occasionné une augmentation de la quantité totale de Cr et Cu extraite dans les racines de *F. arundinacea*. Par ailleurs, les espèces en polyculture avaient toutes des concentrations égales ou plus élevées d'éléments traces dans leurs tissus que leurs monocultures. La mort de *S. interior* en combinaison avec *F. arundinacea* a été observée sans distinction de la contamination du sol et mène à des conclusions mitigées. Les effets des traitements sur la dissipation du PCP sont non concluants compte tenu des faibles concentrations dans le sol relevées au début et à la fin de l'expérience et de la variabilité entre les pots. Nous pouvons ainsi suggérer que la combinaison entre une espèce arbustive et une espèce herbacée semble mener à un potentiel supérieur de phytoremédiation, mais d'autres études devront être réalisées.

Mots-clés :

Phytoremédiation, complémentarité fonctionnelle, co-plantation, contamination mixte

Abstract

Mixed contaminated soils with both organic and inorganic compounds represent about 40% of all contaminated sites. Phytoremediation is a promising green technology to decontaminate and restore mixed contaminated sites. The objective of the study was to evaluate the phytoremediation potential of a co-planting system between a shrub and an herbaceous species compared to the species in monocultures. A pot experiment with a woody species, *Salix interior*, and one herbaceous species, *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* or *Festuca arundinacea*, and an unplanted control was conducted in a mixed CCA- and PCP-contaminated soil and non-contaminated soil for 120 days. Native and naturalized species with distinct functional traits were chosen for their possibly different and complementary phytoremediation abilities. Plant aboveground and belowground dry weights in all pots, trace element concentrations in plant tissues, and soil trace element and PCP concentrations in contaminated soil were recorded at the end of the cultivation period. Soil contamination and co-planting did not affect species biomass production, except in the *S. interior* + *F. arundinacea* treatment (SF) where roots yield was higher in the contaminated soil. The polyculture SF led to increased Cr and Cu total uptake in the roots of *F. arundinacea*. Furthermore, species in polycultures all had equal or superior trace element concentrations in their tissues compared to their monocultures. Death of *S. interior* in co-cropping with *F. arundinacea* was observed with no distinction of soil contamination and led to mitigated conclusions. Treatments effects on PCP dissipation are inconclusive given the low soil concentrations found at the beginning and at the end of the experiment and because of the variability between the pots. We can therefore suggest that the co-planting of a shrub species and a species with different traits seems to lead to higher phytoremediation potential, but further investigation is required.

Keywords:

Phytoremediation, functional complementarity, co-planting, mixed contamination

Table des matières

Résumé.....	I
Liste des tableaux.....	V
Liste des figures	VI
Remerciements.....	VII
Chapitre 1 INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1. Phytoremédiation en sol à contamination mixte.....	1
1.1 Contamination des sols	1
1.1.1 Arséniate de cuivre chromaté (ACC).....	3
1.1.2 Pentachlorophénol (PCP).....	5
1.2 Remédiation des sols contaminés	8
1.3 Phytoremédiation	9
1.3.1 Utilisation d'une combinaison d'espèces en phytoremédiation.....	12
2. Objectifs de recherche.....	19
3. Hypothèses	20
4. Approche générale	21
5. Espèces choisies.....	22
Chapitre 2 Functional complementary in phytoremediation of a mixed CCA- and PCP-contaminated soil	23
Abstract	23
1. Introduction.....	24
2. Methods.....	26
2.1 Experimental setup.....	26
2.2 Soil and plant tissue analysis	27
2.3 Data calculation	28
2.4 Statistical analysis.....	29
3. Results.....	29
3.1 Plant establishment and biomass production	29
3.2 Trace element concentration	31
3.3 Bioconcentration factor (BCF)	34

3.4 Trace element accumulation in plants.....	34
3.5 PCP dissipation in soil	37
4. Discussion.....	37
4.1 Plant productivity.....	38
4.2 Plant uptake of trace element.....	39
4.3 Complementarity of co-planting for mixed contaminated soil remediation.....	41
5. Conclusion	43
Acknowledgments.....	44
References.....	44
Chapitre 3 DISCUSSION GÉNÉRALE	49
Bibliographie.....	60

Liste des tableaux

Chapitre 1 Introduction générale

Tableau 1.1 Propriétés et caractéristiques du PCP	6
Tableau 1.2 Critères génériques pour les sols pour l'As, le Cu, le Cr et le PCP du MELCC	7
Tableau 1.3 Techniques communes de remédiation de sols contaminés aux éléments traces.....	8
Tableau 1.4 Études portant sur l'utilisation des polycultures en phytoremédiation	15

Chapitre 2 Functional complementarity in phytoremediation in a mixed CCA- and PCP-contaminated soil

Table 2.1 Establishment rate (%) and presence at the end of the experiment (%) of <i>S. interior</i> (S), <i>A. millefolium</i> (A), <i>T. pratense</i> (T) and <i>F. arundinacea</i> (F) in all monoculture or co-planting treatments (n = 6).....	30
Table 2.2 Bioconcentration factor (BCF = [element] plant / [element] initial soil) for As, Cu and Cr in leaves and stems for <i>S. interior</i> (S), aboveground tissues for <i>A. millefolium</i> (A), <i>T. pratense</i> (T) and <i>F. arundinacea</i> (F), and in roots for all plant species for all monoculture and co-planting treatments	34

Chapitre 3 Discussion générale

Table 3.1 Mean (with standard deviation) trace element concentrations (mg kg ⁻¹) in the soil at the beginning (C _i , n=6) and after 120 days of growth (C _f) in a contaminated soil for co-planting treatments involving <i>S. interior</i> (S), <i>A. millefolium</i> (A), <i>T. pratense</i> (T) and <i>F. arundinacea</i> (F).....	56
---	----

Liste des figures

Chapitre 1 Introduction générale

Figure 1.1 Structure chimique d'As(V) et d'As(III).....	3
Figure 1.2 Voies de dissipation des contaminants organiques.....	7
Figure 1.3 Différents modes d'action de la phytoremédiation	10

Chapitre 2 Functional complementarity in phytoremediation in a mixed CCA- and PCP-contaminated soil

Figure 2.1 Mean (with standard deviation) dry biomass (g dry weight pot ⁻¹) in aboveground (leaves + stems for <i>S. interior</i> only) and belowground (roots) tissues for co-planting treatments involving (a) <i>S. interior</i> , (b) <i>A. millefolium</i> , (c) <i>T. pratense</i> and (d) <i>F. arundinacea</i> after 120 days of growth in a contaminated soil.....	31
Figure 2.2 Mean (with standard deviation) trace element concentrations (mg TE kg ⁻¹) in aboveground (leaves and stems for <i>S. interior</i>) and belowground (roots) tissues for co-planting treatments involving <i>S. interior</i> , <i>A. millefolium</i> , <i>T. pratense</i> and <i>F. arundinacea</i> after 120 days of growth in a contaminated soil.....	33
Figure 2.3 Mean (with standard deviation) trace element accumulation by all plants (mg TE pot ⁻¹) in aboveground (leaves and stems for <i>S. interior</i>), belowground (roots) and total tissues for co-planting treatments involving <i>S. interior</i> (S), <i>A. millefolium</i> (A), <i>T. pratense</i> (T) and <i>F. arundinacea</i> (F) after 120 days of growth in a contaminated soil	36
Figure 2.4 Mean (with standard deviation) PCP dissipation (%) and PCP residual concentration (mg kg ⁻¹) in the soil after 120 days of growth in a contaminated soil for co-planting treatments involving <i>S. interior</i> (S), <i>A. millefolium</i> (A), <i>T. pratense</i> (T) and <i>F. arundinacea</i> (F).....	37

Chapitre 3 Discussion générale

Figure 3.1 Mean (with standard deviation) dry biomass (g dry weight pot ⁻¹) in aboveground and belowground tissues for co-planting treatments involving <i>S. interior</i> (S), <i>A. millefolium</i> (A), <i>T. pratense</i> (T) and <i>F. arundinacea</i> (F) after 120 days of growth in a contaminated (C) and non-contaminated soil (NC).....	51
---	----

Remerciements

Je tiens à remercier mon directeur et mes codirecteurs de recherche, Jacques Brisson, Frédéric Pitre et François Courchesne pour leur aide précieuse et leurs commentaires judicieux tout au long de ma maîtrise. Je tiens également à remercier Cédric Frénette-Dussault pour son appui lors de l'analyse statistique et de la rédaction de mon article. Un merci spécial à l'entièreté des gens du laboratoire Brisson : Patrick Boivin, Benoît St-Georges, Chloé Frédette, Valérie Desrochers, Philippe Heine, Henry Béral, Yannika Poirier et plusieurs autres pour le soutien technique et les conseils, encore une fois, plus que judicieux. Enfin, je remercie mes proches qui me soutiennent dans tout ce que j'entreprends et qui ne cessent jamais de croire en moi.

Chapitre 1 | INTRODUCTION GÉNÉRALE

La contamination des sols est un problème à l'échelle mondiale, notamment en Amérique du Nord. Plus de 30 000 terrains sont contaminés au Canada et 384 400 ont été recensés à travers les États-Unis (Simons 1998, De Sousa 2001). L'Agence de protection de l'environnement des États-Unis (USEPA) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) ciblent la présence de contaminants dans l'environnement comme un enjeu majeur. Les contaminants organiques et les éléments traces constituent les deux principales classes de contaminants présents dans le sol et les sédiments (Zhang et al. 2014, Zhang et al. 2016, Liu et al. 2017, Song et al. 2017, Zeng et al. 2017). En fait, les terrains contaminés mixtes, soit contaminés par la combinaison de ces deux types de contaminants, représentent la majorité des terrains contaminés (Sandrin et al. 2000). Les méthodes conventionnelles de remédiation des sols sont onéreuses, peuvent perturber l'environnement en dénaturant la matrice en place et ne sont pas nécessairement optimales pour remédier un sol à contamination mixte. Ainsi naît l'opportunité de mettre en place et de peaufiner des méthodes alternatives, telle que la phytoremédiation. Cette technique non intrusive a été étudiée dans de nombreux pays principalement avec l'essai d'une seule espèce à la fois. L'utilisation d'une combinaison d'espèces aux traits fonctionnels distincts offre une possibilité d'aptitudes de phytoremédiation différentes et potentiellement complémentaires pour la remédiation du sol. Actuellement, encore peu de chercheurs se sont penchés sur le potentiel d'utiliser des polycultures en sol à contamination mixte.

1. Phytoremédiation en sol à contamination mixte

1.1 Contamination des sols

La Loi sur la qualité de l'environnement (LQE) définit un contaminant comme « une matière solide, liquide ou gazeuse, un micro-organisme, un son, une vibration, un rayonnement, une chaleur, une odeur, une radiation ou toute combinaison de l'un ou l'autre susceptible d'altérer de quelque manière la qualité de l'environnement » (Gouvernement du Québec 2018). Dans ce

texte, une distinction sera faite entre les contaminants inorganiques et les contaminants organiques. Un site à contamination dite « mixte » contient à la fois des contaminants inorganiques et organiques.

Les contaminants organiques incluent une diversité de classes telles que les composés organiques volatils, les hydrocarbures, les pesticides, les biphénylpolychlorés (BPC) et les phénols (Zagury et al. 2013). Le comportement des contaminants organiques est complexe dans le sol. Il est régi par un ensemble de processus tels que la dégradation chimique et biologique, la volatilisation, l'extraction par les plantes, les mécanismes de sorption et désorption du sol ainsi que la lixiviation (Mamy et al. 2005). Du côté des contaminants inorganiques, leur comportement dans le sol est déterminé par notamment le potentiel d'oxydoréduction, le pH, le pourcentage en argile et les propriétés même du métal (McLean et al. 1996). Quant à l'extraction des métaux biodisponibles par les plantes, elle dépend des propriétés physico-chimiques du sol, de l'espèce utilisée ainsi que de la nature même du métal (McBride 2003).

Lorsqu'il s'agit d'une contamination mixte, la stratégie de décontamination à mettre en œuvre nécessite de plus longues réflexions et des connaissances accrues de la contamination sur le terrain étant donné la présence de contaminants différents et les interactions entre eux (Reddy 2011). Par ailleurs, une contamination multiple pourrait amener une toxicité accrue pour les plantes comparativement à la contamination par un seul type de contaminants, puisque la toxicité de chaque contaminant pourrait être additionnée en raison de l'effet cumulatif des divers contaminants. La présence de composés organiques peut aussi avoir un effet sur la mobilité des contaminants inorganiques dans le sol (Dubé et al. 2002, Galvez-Cloutier and Dubé 2002) et compliquer la décontamination des éléments traces. Quant à l'effet des éléments traces sur les composés organiques, ils peuvent limiter la biodégradation des contaminations organiques (Said and Lewis 1991, Sandrin and Maier 2003) et réduire l'efficacité de certaines méthodes de remédiation. Ainsi, une telle contamination amène son lot de défis lors de la mise en œuvre d'une stratégie de phytoremédiation.

Pour ce qui est des propriétés physiques et chimiques du sol, les paramètres à connaître sont notamment le pH, la teneur en argile, le potentiel d'oxydoréduction, la capacité d'échange cationique et la teneur en carbone organique et inorganique (McLean et al. 1996). Par ailleurs, une

connaissance des propriétés chimiques et des caractéristiques des contaminants jumelée à une connaissance de l'environnement nous permettent d'estimer dans quelles phases on peut s'attendre à rencontrer les contaminants et sous quels niveaux de concentration. Ces informations permettent également de prévoir la mobilité des contaminants et leur biodisponibilité pour les plantes.

Dans le contexte de l'étude, la problématique porte sur la remédiation du sol de sites d'entreposage de poteaux de bois traité d'Hydro-Québec. Les prochaines lignes présentent les deux produits de préservation de bois étudiés soit l'arséniate de cuivre chromaté et le pentachlorophénol.

1.1.1 Arséniate de cuivre chromaté (ACC)

L'arséniate de cuivre chromaté est un produit inorganique utilisé pour la préservation du bois. L'As est utilisé comme un insecticide, le Cu empêche la croissance des champignons et le Cr permet de fixer ces deux éléments aux tissus du bois. Au Canada, le produit utilisé exclusivement est l'ACC ($\text{As}_2\text{CrCuO}_9$) de type C qui se compose de 47,5% de CrO_3 , de 18,5% de CuO et de 34% de As_2O_5 (Cooper 1994). Ce composé se trouve sous forme liquide et est non volatil (NCBI 2015).

La description et le comportement dans le sol des trois éléments constituant l'ACC sont présentés ci-bas. L'As est un métalloïde, c'est-à-dire qu'il possède les propriétés d'un métal et d'un non-métal (ASTDR 2007). Cet élément est naturellement présent dans l'environnement, notamment dans certaines roches et certains dépôts sédimentaires. Il peut également être de source anthropique et provenir de l'exploitation minière, de l'utilisation de fertilisants ou de pesticides par exemple (EPA 2003). Dans le sol, l'As de forme inorganique se trouve en tant qu'As pentavalent As(V) (arséniate, AsO_4^{3-}) et qu'As trivalent As(III) (arsénite, AsO_2^-) (Figure 1.1).

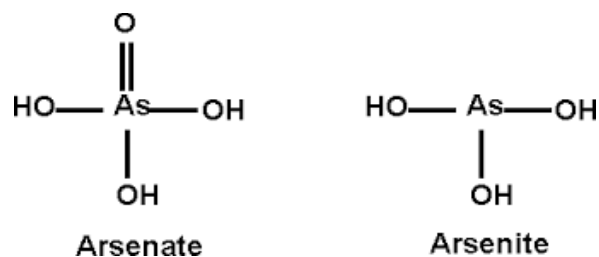


Figure 1.1 Structure chimique d'As(V) et d'As(III)
(University of Florida 2017)

L'As(V) est de quatre à dix fois plus soluble dans l'eau et constitue la forme la plus toxique (McLean et al. 1996). Il peut prévenir la formation de l'ATP durant la glycolyse (Hughes 2002) ce qui mène à une baisse de l'apport d'énergie de la cellule (Scott-Fordsmand and Pedersen 1995). L'arsénite peut, quant à lui, mener à la dégradation et à la mort de la cellule par son action dans les protéines (Jiang and Singh 1994, Scott-Fordsmand and Pedersen 1995). L'As est bien reconnu pour ses effets néfastes sur la santé humaine et son potentiel cancérigène (Smith et al. 1992).

L'As est sensible à l'oxydoréduction et sa mobilité est directement liée au cycle de certains éléments, tels le carbone, le fer et le soufre, entre la solution et la phase solide (Bissen and Frimmel 2003). Les concentrations d'As et leur spéciation dans les sols dépendent de plusieurs facteurs : le pH, le potentiel d'oxydoréduction, les réactions d'adsorption et l'activité biologique, entre autres (Bhumbla and Keefer 1994). Le potentiel d'oxydoréduction est le facteur qui régit le plus la biodisponibilité des formes d'As sous des conditions de pH autour de 7. Sous de hautes valeurs de potentiel d'oxydoréduction ($pE > 10$), la forme de l'arséniate est plus présente alors que l'arsénite va dominer sous des conditions de potentiel d'oxydoréduction faible ($pE < 6$) (Sadiq 1997). Quant au pH, un $pH > 7$ augmente la disponibilité de l'arséniate et de l'arsénite, alors qu'un $pH < 7$ diminue leur disponibilité dû à l'abondance de charges positives qui neutralisent les sites d'échanges de charge négative dans le sol (Moreno-Jiménez et al. 2012).

Le Cu est un métal lourd essentiel pour les plantes notamment pour la photosynthèse (Chatterjee et al. 2006, Mahmood and Islam 2006). Malgré sa nature essentielle pour les plantes, une trop grande concentration de Cu dans le sol peut entraîner une toxicité chez les plantes. Cette limite est dépendante de l'espèce et des propriétés du sol. La rétention du Cu dans le sol augmente avec une plus grande proportion de matière organique, ainsi que sous l'augmentation de la capacité d'échange cationique (Balasoïu et al. 2001). La biodisponibilité du Cu augmente en relation directe avec la diminution du pH du sol (Delas 1984, Gupta and Aten 1993). La solubilité et la biodisponibilité du Cu sont aussi fortement liées à la présence de plusieurs ligands tels que $Cl(-)$, $SO_4(2-)$ et $PO_4(3-)$ et aux ligands organiques en solution (Sauvé et al. 1997).

De manière générale, la sorption du Cr dans le sol est basse lorsqu'il s'agit de sol minéral et s'accroît avec le pourcentage de matière organique présente (Balasoïu et al. 2001). La mobilité du Cr dans le sol est comparable à celle du Cu (Stilwell and Gorny 1997). Le Cr peut se retrouver

sous la forme de Cr trivalent Cr(III), qui s'adsorbe rapidement sur les sols et est donc peu mobile, et le Cr hexavalent Cr(VI) qui est plus toxique et hautement soluble dans l'eau (McLean et al. 1996). À pH neutre, les composés de Cr(III) forment des précipités assez inertes (Kotas and Stasicka 2000). Il est à noter que le Cr hexavalent est retrouvé dans les sites de traitement des poteaux de bois, et non dans les sites d'entreposage des poteaux de bois. Une réduction du Cr(VI) en Cr(III) se produit lors de la fixation de l'ACC au bois des poteaux (Hingston et al. 2001) et le Cr(VI) n'est ainsi plus présent pour être lessivé du bois traité par les précipitations. Cependant, les sites de traitement des poteaux de bois peuvent être contaminés par l'écoulement du produit de préservation directement dans le sol.

En bref, les propriétés physico-chimiques du sol ont une influence, particulièrement dans le cas de l'As(V) et du Cr(III), sur la spéciation des éléments traces. La spéciation chimique a un impact sur la mobilité, la biodisponibilité et la toxicité des éléments traces (McLean et al. 1996).

1.1.2 Pentachlorophénol (PCP)

Le pentachlorophénol est un composé phénolique persistant utilisé à travers le monde pour traiter le bois. Les terrains contaminés au PCP font l'objet d'un cas prioritaire de décontamination selon l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis. Ses propriétés chimiques rendent la biodégradation du composé difficile (Walter et al. 2007) ce qui mène à une bioconcentration et une certaine persistance dans l'environnement. En ce sens, la demi-vie dans un site est de 45 jours (Beckers et al. 1994) et on observe une toxicité élevée pour les êtres vivants (Repetto et al. 2001, Gravance et al. 2003, Freire et al. 2005, Yang et al. 2005).

Le Tableau 1.1 présente les principales caractéristiques et propriétés du PCP qui permettent de prédire son comportement dans le sol, l'air et dans l'eau.

Tableau 1.1 Propriétés et caractéristiques du PCP

Propriétés chimiques				
Structure chimique	Poids moléculaire (g/mol)	Point de fusion (°C)	Densité (g/cm ³)	Solubilité aqueuse S _{aq} (mol/m ³)
C ₆ HCl ₅ O	266	190	1,98	14
Paramètres de volatilisation		Paramètres d'adsorption		
Tension de vapeur P _v (mm Hg)	Constante de Henry 1/K _w (atm*m ³ /mol)	LogK _{ow}	LogKoc	
0,0001	3 x 10 ⁻⁶	5,12	4,8	

**Valeurs tirées des notes de cours (Zagury et al. 2013)*

Pour ce qui est de l'adsorption dans le sol, deux paramètres régulent sa tendance à être adsorbé aux particules du sol : le coefficient de partition octanol/eau (Kow) et le coefficient d'adsorption sur la matière organique (Koc). Le logKow élevé indique que le PCP a fortement tendance à s'adsorber sur les particules du sol. Pour renforcer cette idée, la valeur du logKoc indique que le PCP a tendance à être fortement lié à la matière organique présente dans le substrat (Zagury et al. 2013). La mobilité du PCP augmente sous des hautes valeurs de pH (≥ 7) (Christodoulatos and Mohiuddin 1996).

Les manières de dissipation des contaminants organiques sont variées (Figure 1.2). Plusieurs processus gèrent la dissipation des composés organiques, notamment l'extraction par les plantes, la dégradation biologique et chimique, la volatilisation, la détoxification, l'adsorption dans le sol, la lixiviation et l'écoulement de surface (Andreu and Picó 2004). La sorption par les particules du sol dépend de nombreux mécanismes comme le transfert de charge, la solubilité d'un élément dans l'eau, l'échange d'ions et l'interaction hydrophobique (Pitter and Chudoba 1990, Schwarzbauer 2006). Il est donc difficile de prévoir la dissipation de contaminants organiques dans l'environnement. Par ailleurs, le mouvement et la dégradation des contaminants organiques dans le sol sont gouvernés par trois grands groupes de propriétés : les propriétés du contaminant, les propriétés du sol et les conditions météorologiques (Rampazzo 2009).

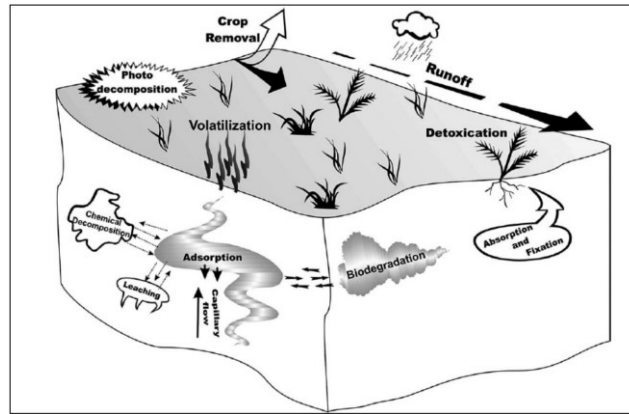


Figure 1.2 Voies de dissipation des contaminants organiques (Andreu and Picó 2004)

À l'échelle du Québec, le guide d'intervention Politique des sols et réhabilitation des terrains contaminés de 2016 agit légalement sous la Loi sur la qualité de l'environnement. Le Tableau 1.2 présente les critères génériques pour les sols pour les contaminants étudiés du Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC). Le critère A correspond à la teneur de fond pour les paramètres inorganiques et à la concentration minimale pouvant être quantifiée pour les paramètres organiques. Le critère B est la concentration maximale pour les terrains résidentiels et institutionnels sensibles, tel qu'un établissement d'enseignement. Le critère C correspond à la valeur maximale acceptable pour les terrains industriels, commerciaux et institutionnels qualifiés de non sensibles et récréatifs tels les pistes cyclables et les parcs municipaux (Ministère du Développement durable 2015).

Tableau 1.2 Critères génériques pour les sols pour l'As, le Cu, le Cr et le PCP du MELCC

	Critères de sols (mg/kg matière sèche)		
	A	B	C
Arsenic (As)	6	30	50
Chrome total (Cr)	100	250	800
Chrome VI (Cr VI)	2	6	10
Cuivre (Cu)	50	100	500
Pentachlorophénol (PCP)	0,1	0,5	5

Une distinction est faite pour le Cr total du Cr VI compte tenu de la toxicité du Cr hexavalent. Il faut d'ailleurs noter qu'il n'existe pas de valeur de Cr VI pour le critère A, qui est

la teneur de fond, car le Cr VI est d'origine anthropique (Ministère du Développement durable 2015).

1.2 Remédiation des sols contaminés

Les techniques de remédiation des sols contaminés sont diverses et sont adaptées aux éléments traces et/ou aux composés organiques. Les méthodes de remédiation se séparent en deux principales stratégies, si le matériau est excavé pour faire l'objet de traitements à l'extérieur du site, on les appelle « ex situ » ou « in situ » si la remédiation se déroule sans déplacer le matériau en place. Le Tableau 1.3 présente les techniques les plus communément utilisées pour les sols contaminés aux éléments traces (Liu et al. 2018).

Tableau 1.3 Techniques communes de remédiation de sols contaminés aux éléments traces

In situ	Physiques	Confinement de surface Encapsulation
	Électriques	Électrocinétique Vitrification
	Chimiques	Lessivage des sols Immobilisation
	Biologiques	Phytoremédiation Bioremédiation
Ex situ	Physiques	Enfouissement
	Chimiques	Lavage des sols Solidification
	Thermiques	Vitrification

Quant aux sols contaminés aux composés organiques, une multitude de méthodes peuvent aussi s'appliquer selon le type de composé. L'excavation et le traitement, la bioremédiation, le lavage et le lessivage et l'extraction chimique des sols et la phytoremédiation sont des exemples de technologies adaptées au pentachlorophénol, un composé phénolique (Gouvernement du Canada 2018).

Enfin, choisir une technique de remédiation adaptée à un site à contamination mixte est un long processus. En effet, le devenir de la contamination dans le sol est complexe étant donné les interactions imprévisibles entre les divers contaminants (Reddy 2011). Par ailleurs, comme chaque contaminant possède des propriétés chimiques et des caractéristiques physiques distinctes, une certaine technologie de remédiation pourrait bien permettre à un type de contaminant d'être retiré

de l'environnement, mais ne pas être efficace sur l'autre (Chirakkara 2014). De plus, certaines interactions entre les types de contaminants pourraient également limiter l'efficacité d'une méthode de remédiation adaptée à l'un ou l'autre des contaminants (Reddy 2011). La remédiation d'un sol à contamination mixte peut être affectée par les métaux lourds qui ont le potentiel d'inhiber la biodégradation de composés organiques par les microorganismes dans le sol (Said and Lewis 1991, Sandrin and Maier 2003). En effet, l'étude de Maslin and Maier (2000) a montré que le cadmium a inhibé la biodégradation d'un hydrocarbure aromatique polycyclique, le phénanthrène, sur des sols d'un désert contenant des communautés microbiennes indigènes. Les contaminants organiques peuvent aussi influencer la mobilité des contaminants inorganiques dans le sol et limiter l'efficacité des méthodes utilisées pour immobiliser ou enlever les éléments traces dans le sol (Galvez-Cloutier and Dubé 2002). Un autre exemple de la complexité de la remédiation de sites contaminés mixtes est que l'ajout de fertilisants augmente la biodégradation des contaminants organiques par la hausse de l'activité microbienne du sol, mais peut aussi diminuer le pH (Mills et al. 2006). La remédiation des éléments traces est complexifiée par la hausse de leur mobilité sous ses conditions de bas pH (Mills et al. 2006), alors que le PCP, par exemple, a moins de chance d'être lixivié sous de telles conditions (Christodoulatos et al. 1994).

Les méthodes couramment utilisées pour remédier des sites à contamination mixte sont notamment le lavage du sol, la stabilisation et la solidification in situ et le traitement électrocinétique (Sharma and Reddy 2004). Ces méthodes demandent une mise en place extensive de ressources et plusieurs d'entre elles dénaturent le matériau en place en changeant les propriétés physico-chimiques et la texture du sol. C'est ainsi que la phytoremédiation intervient comme une approche innovatrice pour la remédiation de sites contaminés avec de la contamination mixte (Cameselle et al. 2013).

1.3 Phytoremédiation

La phytoremédiation est l'utilisation des propriétés naturelles des plantes et des microorganismes associés pour extraire ou dégrader des contaminants (Raskin et al. 1994, Salt et al. 1995, Salt et al. 1998). La phytoremédiation est une technique non intrusive, qui permet de traiter le sol in situ sans dénaturer le sol en place. Cette approche permet de maintenir la structure

physique du sol tout en conservant l'activité biologique existante sur le terrain, contrairement à de nombreuses autres méthodes. Les différents modes d'action de la phytoremédiation sont présentés à la Figure 1.3.

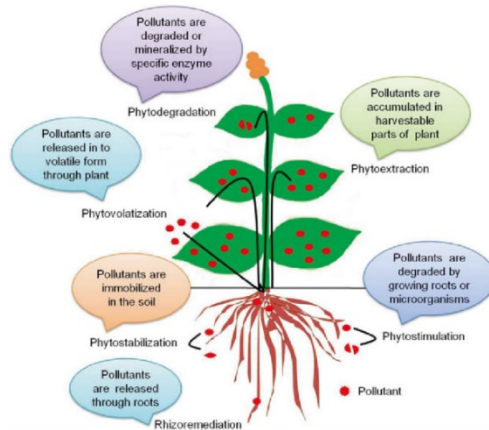


Figure 1.3 Différents modes d'action de la phytoremédiation
(Yadav et al. 2015)

Les modes d'action de la phytoremédiation diffèrent selon qu'il s'agit de contaminants inorganiques ou de contaminants organiques. Du côté des éléments traces, les mécanismes de phytoremédiation qui sont utiles pour remédier un sol contaminé sont la phytoextraction, la phytostabilisation et la phytovolatilisation. La phytoextraction permet d'extraire les éléments traces du sol pour les accumuler dans les tissus des plantes (Bedmar et al. 2009, Mehmood et al. 2013). Les plantes ayant un facteur de translocation élevé peuvent davantage concentrer des éléments traces dans les parties aériennes comparativement aux parties racinaires et sont celles à privilégier en phytoextraction (Wei and Zhou 2006). Plusieurs facteurs peuvent influencer l'extraction des éléments traces par les plantes. La compétition entre les espèces dans un même système, la biodisponibilité des éléments dans le sol, le type de feuilles, la taille des plantes, le système racinaire et l'approvisionnement en énergie des espèces dans leurs feuilles et leurs racines sont autant de facteurs qui ont un rôle à jouer dans l'extraction des éléments traces dans les tissus (Yamamoto and Kozlowski 1987). Les concentrations d'éléments traces dans les tissus des plantes varient donc grandement en vertu des multiples variables selon les diverses caractéristiques du sol ou des plantes (Wong 1996). La phytostabilisation est une méthode qui utilise les plantes et leurs microorganismes associés pour immobiliser des contaminants (Cunningham et al. 1995, Ward and

Singh 2004). Cette approche permet de limiter la lixiviation des contaminants dans les eaux souterraines et leur étalement avec la poussière (Antosiewicz et al. 2008). Contrairement à la phytoextraction, la phytostabilisation permet de limiter la contamination par la chaîne alimentaire et de limiter la dispersion des contaminants dans l'environnement. La phytostabilisation prend tout son sens quand un sol est contaminé sur une grande superficie avec des concentrations élevées de contaminants. Dans ce cas, souvent aucune autre solution de remédiation n'est envisageable. La phytovolatilisation est un autre mode d'action qui se définit comme étant la conversion des polluants sous leur forme volatile et leur libération dans l'atmosphère. La phytovolatilisation s'opère pour certains métaux comme le mercure et le sélénium (Ali et al. 2013).

Pour ce qui est des modes d'action liés aux contaminants organiques, la phytodégradation, la rhizodégradation et la phytovolatilisation sont les trois processus en jeu. La phytodégradation et la rhizodégradation sont des processus biologiques entraînant la dégradation des composés organiques par des enzymes sécrétées par les plantes (Jerzy and Jean-Marc 1994) ou par une augmentation de l'activité bactérienne et fongique dans la rhizosphère (Susarla et al. 2002). Enfin, l'extraction d'un contaminant dans un substrat (eau ou sol) pour le convertir dans une forme volatile est ce que l'on appelle de la phytovolatilisation (Terry et al. 1995).

Certains indices permettent de présenter le potentiel des plantes en phytoextraction ou en phytostabilisation : le facteur de bioaccumulation (BAF) et le facteur de translocation (TF).

$$BAF = C_{\text{tissus}}/C_{\text{sol}}$$

Où C_{tissus} : concentration du contaminant dans les tissus (mg kg^{-1})

C_{sol} : concentration du contaminant dans le sol (mg kg^{-1})

$$TF = C_{\text{aériens}}/C_{\text{racines}}$$

Où $C_{\text{aériens}}$: concentration du contaminant dans les tissus aériens (mg kg^{-1})

C_{racines} : concentration du contaminant dans les racines (mg kg^{-1})

Les plantes qui ont un TF et un BAF > 1 ont un potentiel pour la phytoextraction et celles avec des ratios BAF > 1 et TF < 1 sont des candidates pour la phytostabilisation (Yoon et al. 2006).

Les espèces utilisées en phytoremédiation font partie de deux grandes catégories : les espèces hyperaccumulatrices et celles à forte production de biomasse. Les plantes hyperaccumulatrices sont très tolérantes à certains éléments traces et elles peuvent concentrer ceux-ci dans leurs tissus aériens à des niveaux largement supérieurs à ceux du sol ou des plantes environnantes (Memon et al. 2001, Memon and Schröder 2009). Néanmoins, certaines espèces hyperaccumulatrices n'offrent pas toujours une grande production de biomasse ce qui limite les quantités d'éléments traces extraits du sol. Une alternative à l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices sont les espèces à forte production de biomasse (Baker et al. 1991). La production élevée de biomasse, la croissance rapide et le système racinaire profond de ces espèces offrent des capacités de phytoremédiation intéressantes, malgré qu'elles concentrent peu les éléments traces dans leurs tissus (Sebastiani et al. 2004, Castiglione et al. 2007). Par ailleurs, les plantes avec une forte biomasse racinaire peuvent offrir une dégradation supérieure des contaminants organiques par l'augmentation de l'activité microbienne du sol (Pilon-Smits 2005). Dans un contexte de contamination mixte, l'essai d'une espèce ligneuse en combinaison avec une plante herbacée pouvant être une candidate en phytoextraction peut mener à un potentiel de phytoremédiation supérieur à celui de ces deux espèces en monoculture.

1.3.1 Utilisation d'une combinaison d'espèces en phytoremédiation

La phytoremédiation par une combinaison d'espèces pourrait répondre à la complexité de remédiation d'un sol à contamination mixte. Trois principaux processus sont abondamment cités dans la littérature pour expliquer les réactions positives de polycultures d'espèces dans un contexte de phytoremédiation : la facilitation, l'effet de sélection et l'effet de complémentarité.

La facilitation se traduit par l'augmentation de la performance d'espèce *a* due à l'augmentation de la densité d'espèces *b* (Wright et al. 2017). Par ailleurs, des études ont montré que les interactions positives entre les espèces végétales augmentent dans des communautés stressées (Bertness and Callaway 1994, Brooker and Callaghan 1998). Les espèces qui bénéficient le plus du mécanisme de facilitation sont les espèces compétitives et résistantes au stress (Hacker and Gaines 1997, Liancourt et al. 2005, Lortie and Callaway 2006).

De son côté, l'effet de sélection stipule qu'avec une plus grande diversité d'espèces, il y a plus de chances qu'il y ait une espèce productive dans le lot et possiblement un plus haut rendement si ce type d'espèces domine la culture (Huston 1997).

Le concept global de complémentarité se définit comme le résultat d'interactions entre espèces qui permet d'augmenter la disponibilité des ressources et de réduire la compétition interspécifique. La complémentarité est due à l'utilisation de ressources complémentaires et la différenciation de la niche ou à de la facilitation entre les espèces (Tilman et al. 2001). Les concepts de niche différenciée et de la facilitation sont tous deux inclus au sein même de la complémentarité compte tenu de la difficulté de distinguer leurs effets dans la nature (Loreau and Hector 2001). Théoriquement, la complémentarité de niche s'exprime souvent par le fait que les espèces dans un même environnement ont des besoins différents en ressources et possèdent diverses stratégies d'acquisition pour ces ressources. Ainsi, une plus importante diversité d'espèces entraîne une occupation extensive des niches ce qui mène ultimement à une production de biomasse augmentée à l'échelle de la communauté grâce à une meilleure utilisation des ressources (Wright et al. 2017). La complémentarité fonctionnelle se définit par des interactions d'espèces qui offrent différentes réponses à une fonction collective. Une diversité de fonctions de plusieurs espèces est ainsi essentielle pour avoir une plus grande performance sur le plan fonctionnel (Blüthgen and Klein 2011). L'effet de biomasse augmentée en polyculture peut aussi être attribuable à une hausse des interactions entre les espèces qui permettrait de réguler les populations de ravageurs et de faire un meilleur cyclage des éléments nutritifs (Smith et al. 2008). Plus précisément, une hausse de la diversité d'espèces a de fortes probabilités de permettre une plus grande exploitation de l'azote dans le sol (Drinkwater et al. 1998, Mäder et al. 2002). Néanmoins, il est ardu d'associer tous les effets positifs de la diversité d'espèces sur le fonctionnement d'un écosystème à des relations de complémentarité, à des effets de sélection (Balvanera et al. 2006, Cardinale et al. 2006, Marquard et al. 2009) ou à de la facilitation (Caldeira et al. 2001, Cardinale et al. 2002, Lambers et al. 2004, Schnitzer et al. 2011, Bessler et al. 2012, Brooker et al. 2016). Ainsi, un effet positif peut être observé sans que l'on puisse en déterminer les mécanismes responsables.

Dans un contexte de phytoremédiation, plusieurs études (Bertness and Callaway 1994, Callaway 1995, Callaway and Walker 1997, Brooker and Callaghan 1998, Callaway et al. 2002,

Gómez-Aparicio et al. 2004) proposent que dans des environnements stressés, il y ait plus d'interactions positives entre les plantes. Par ailleurs, une hausse de productivité des espèces permettrait une plus grande capacité de phytoremédiation et l'utilisation d'espèces aux traits fonctionnels distincts a le potentiel d'augmenter la performance de phytoremédiation en utilisant des forces différentes de chaque espèce. C'est dans cette optique que s'inscrit le désir d'expérimenter une polyculture pour la phytoremédiation d'un sol à contamination mixte. Chaque espèce possède un ensemble d'habiletés déterminées en phytoremédiation (Sarma 2011) et utiliser une combinaison d'espèces pourrait permettre de tirer profit de différentes habiletés sur un même terrain.

En contrepartie, certains autres mécanismes peuvent être responsables des effets négatifs d'une diversité d'espèces dans un contexte de phytoremédiation. Par exemple, la compétition peut notamment expliquer une diminution de rendement de certaines espèces en combinaison avec d'autres. Les espèces peuvent être amenées à compétitionner pour des ressources telles que de l'eau ou des nutriments et une espèce plus compétitive peut obtenir plus de ressources au détriment d'une autre espèce (Craine and Dybzinski 2013).

De nombreuses recherches ont porté sur l'utilisation de la phytoremédiation, mais peu d'entre elles se sont intéressées au cas particulier d'une contamination mixte et de l'utilisation de plus d'une espèce pour permettre une décontamination efficace du substrat. Un aperçu de certaines études portant sur l'utilisation des polycultures est proposé sous forme de tableau (Tableau 1.4). Ces études sont classées selon le type de contaminant, soit qu'il s'agisse d'une contamination inorganique, organique ou mixte.

Tableau 1.4 Études portant sur l'utilisation des polycultures en phytoremédiation

Contaminants (mg kg ⁻¹)	Substrat	Espèces végétales	Traitements	Durée	Résultats	Réf.
<i>Contamination inorganique</i>						
Sol du site d'une raffineuse pétrolière à Varennes, Québec Ag: 85.7 As: 3.4 Cd: 0.9 Cr: 67.0 Cu: 79.3 Pb: 66.3 Se: 0.5 Zn: 230.1	pH: 7.9 CEC: 47.0 meq 100 g ⁻¹ M.O.: 7.8% Argile: 20.6% Limon: 27.1% Sable: 52.3%	<i>Festuca arundinacea</i> <i>Medicago sativa</i> <i>Salix miyabeana</i> SX67	Monocultures (F, M et S seul) et polycultures (F+M, F+S, M+S et F+M+S)	4 mois	Polyculture des trois espèces (F+M+S) a démontré les meilleurs résultats pour la remédiation d'un sol contaminé à de multiples éléments traces	(Desjardins et al. 2018)
Composite de sol venant de sédiments de la mine de Huangyan, Chine Cu: 31.29±3.81 Cd: 8.92±2.32 Pb: 924.57±61.23 Zn: 1312.45±52.44	M.O.: 330±71.2 mgkg ⁻¹ total P 50.3±10.6 mgkg ⁻¹ total N = 120.7±41.4 mgkg ⁻¹	<i>Bidens Pilosa</i> <i>Phytolacca americana</i> <i>Commelina communis</i> <i>Mirabilis jalapa</i> <i>Chenopodium ambrosioides</i> <i>Solanum nigrum</i> <i>Brassica campestris</i> <i>Xanthium sibiricum</i>	8 monocultures 5 combinaisons de deux espèces de deux espèces 5 polycultures de quatre espèces 5 polycultures de huit espèces	≈310 j.	Leurs résultats montrent que la diversité d'espèces influence positivement le retrait des éléments traces dans le sol grâce à la facilitation entre les espèces	(Wang et al. 2014)
<i>Topsoil</i> agricole Près d'une mine abandonnée de Zn et de Pb à Arnoldstein (Carinthia, Austria)	Sable loameux	<i>Salix caprea</i> <i>Arabidopsis halleri</i> subsp. <i>halleri</i>	Monocultures et combinaison de deux espèces	Deux saisons de croissance	Polyculture de <i>S. caprea</i> avec <i>A. halleri</i> n'a que partiellement augmenté l'enlèvement total du Zn, mais n'a pas augmenté l'enlèvement du Cd comparativement à la monoculture de <i>S. caprea</i> après deux saisons de croissance	(Wieshammer et al. 2007)
Sol A Cd: 13.4 Zn: 955	Sol B Cd: 4.75 Zn: 500					
Site contaminé par les retombées atmosphériques de deux grandes fonderies de Pb et Zn en France Cd: 19.9 Zn: 1410	Argile: 158 gkg ⁻¹ Limon: 603 gkg ⁻¹ Sable: 239 gkg ⁻¹ C organique: 18,6 gkg ⁻¹ CEC: 13.4 cmol kg ⁻¹	<i>Thlaspi caerulescens</i> <i>Lolium perenne</i> <i>Thlaspi arvense</i>	Monocultures et combinaison de deux espèces	110 j.	La croissance de <i>T. caerulescens</i> a augmenté lorsqu'en polyculture comparativement à la monoculture, mais la population de cette plante a diminué de 50% dans les polycultures. Somme toute, les polycultures ont pu extraire des quantités équivalentes de Cd et de Zn à celles des monocultures.	(Jiang et al. 2010)
Site de la mine de Pb et de Zn de Lechang, Chine Zn: 121 Cd: 0.990 Pb: 268	pH: 6.62 O.M.: 5.53 g kg ⁻¹ CEC: 18.4 cmol kg ⁻¹	<i>Zea mays</i> <i>Sedum alfredii</i>	Non planté, monocultures et polyculture des deux espèces	6 mois	La biomasse de <i>S. alfredii</i> a augmenté significativement en polyculture avec <i>Z. mays</i> . L'extraction du Zn par <i>S. alfredii</i> a aussi augmenté de manière significative en polyculture avec <i>Z. mays</i>	(Wu et al. 2007)

Sol d'une mine de la province de Hunan en Chine As: 79.6 Cd: 41.2 Pb: 519 Zn: 2090	pH: 6.17 M.O.: 21.4 g kg ⁻¹ Azote: 49.9 mg kg ⁻¹ Phosphore: 5.85 mg kg ⁻¹ Potassium: 151 mg kg ⁻¹	<i>Pteris vittata</i> <i>Arundo donax</i> <i>Morus alba</i> <i>Broussonetia papyrifera</i>	Monocultures de chaque espèce Polyculture des quatre espèces	270 j.	Les trois espèces ont augmenté la croissance et l'extraction de l'As de <i>P. vittata</i> .	(Zeng et al. 2019)
<i>Contamination organique</i>						
Sol contaminé artificiellement PCP: 100	pH: 7.31 ± 0.1 M.O.: 22.3 g kg ⁻¹ , N disponible: 128.6mg kg ⁻¹ Capacité de rétention de l'eau: 38.4% Sable: 50% Limon: 39% Argile: 11%	<i>Trifolium repens</i> <i>Lolium perenne</i> <i>Medicago sativa</i> <i>Brassica rapus</i>	S0 = non planté S1 = <i>T. repens</i> S2 = <i>L. perenne</i> S3 = <i>B. rapus</i> S4 = <i>M. sativa</i> S5 = S1 + S3 S6 = S2 + S3 S7 = S3 + S4	60 j.	Les espèces ont toutes augmenté de manière significative la dégradation du PCP dans le sol. Les polycultures ont significativement augmenté l'efficacité de remédiation contrairement aux monocultures. De ce fait, 89.84% du PCP fut enlevé par le traitement de <i>B. rapus</i> et <i>M. sativa</i> et 72,01% par le traitement de <i>B. rapus</i> et <i>T. repens</i> . Toutes les polycultures ont enlevé plus de PCP du sol que les monocultures.	(Hechmi et al. 2014)
Sols viennent d'un site d'une usine à Beijing, Chine PAHs: 23.07 ± 0.42		<i>Lolium perenne</i> <i>Trifolium repens</i> <i>Apium graveolens</i>	Non planté Monocultures Combinaison de deux espèces Polycultures de trois espèces 8 traitements	75 j.	La biodégradation fut le mécanisme dominant dans la phytoremédiation de ces sols et de la phytoextraction fut observée, mais à petite échelle. Les polycultures ont augmenté ces deux modes d'action ce qui a mené à des concentrations moindres de PAHs.	(Meng et al. 2011)
Transformateurs contenant des PCBs + site à Xiaoshan ou + site expérimental agricole à l'Université Zhejiang, Chine PCBs: 7.22	pH: 8.6 M.O.: 1.2% CEC: 5.8 cmol kg ⁻¹ pour le sol de Xiaoshan pH: 6.7 M.O.: 2.2% CEC: 7.9 cmol kg ⁻¹ pour le sol agricole	<i>Medicago sativa</i> <i>Festuca arundinacea</i>	Non planté Monocultures Combinaison des deux espèces	150 j.	Les monocultures de <i>F. arundinacea</i> ont enlevé plus de PCBs du sol que les polycultures.	(Li et al. 2013)
<i>Contamination mixte</i>						
Sol contaminé artificiellement Decabromodiphényléther (BDE-209): 4.87 Cd: 9.8 Pb: 97 Zn: 191	pH: 6.24 CEC: 5.38 cmolkg ⁻¹ Carbone organique total: 3.56 gkg ⁻¹ Sable: 58.4% Limon: 21.7% Argile: 19.9%	<i>Sedum alfredii</i> <i>Festuca arundinacea</i>	Non planté Monocultures et combinaison des deux espèces	120 j.	La dissipation du BDE-209 et la phytoextraction des métaux ont été supérieures dans la co-plantation du <i>S. alfredii</i> et du <i>F. arundinacea</i> .	(Lu and Zhang 2014)
Site de tir - Corée du Sud Cd: 10 Pb: 1100 Zn: 90 Cu: 30 2,4,6-trinitrotoluene (TNT): 50	Loam sableux M.O. < 2.5% Humidité sol: 9.09% pH: 6.5	<i>Echinochloa crusgalli</i> <i>Helianthus annuus</i> <i>Abutilon avicennae</i> <i>Aeschynomene indica</i>	Monocultures ou polyculture des quatre espèces ensemble	180 j.	Les auteurs recommandent l'utilisation de monocultures pour enlever les métaux lourds et le TNT du sol contaminé, puisque la polyculture n'a pas eu d'effets positifs sur la remédiation	(Lee et al. 2007)

Les résultats de ces études (Tableau 1.4) sont variés. Certaines ont montré des effets positifs de l'utilisation d'une combinaison d'espèces sur la remédiation d'un sol contaminé. L'étude de (Desjardins et al. 2018) a montré que l'assemblage de trois espèces en polyculture (*Festuca arundinacea*, *Salix miyabeana* et *Medicago sativa*) était la meilleure option pour la phytoremédiation d'un sol contaminé à de multiples éléments traces. Ils ont aussi noté des effets positifs de *M. sativa* sur *F. arundinacea* qui s'expliquent par l'apport augmenté d'azote de la légumineuse sur la graminée. Dans une autre étude, la facilitation entre les plantes a été nommée comme le processus ayant positivement influencé l'extraction des métaux dans un sol dans des communautés naturelles et expérimentales de plantes. Plus la diversité d'espèces était importante, plus il y avait de la facilitation entre les plantes (Wang et al. 2014). Le potentiel d'utiliser une plante hyperaccumulatrice de Zn et Cd en combinaison avec une plante qui en accumule peu a été étudié en utilisant l'hyperaccumulatrice *Sedum alfredii* et l'espèce *Zea mays*. Les résultats ont montré que l'hyperaccumulatrice bénéficiait de la co-plantation avec *Z. mays* (Wu et al. 2007). Un autre exemple est l'étude récente de (Zeng et al. 2019) qui a testé la combinaison de trois espèces sur une plante hyperaccumulatrice, *Pteris vittata*. Les trois espèces ont stimulé la croissance et l'extraction de l'As pour *P. vittata*. Cependant, l'extraction des éléments traces dans les trois autres espèces n'a pas été augmentée par la polyculture. La conclusion de l'étude énonce que l'utilisation d'une polyculture mène à un taux de phytoextraction similaire ou supérieur aux monocultures et améliore les propriétés biologiques dans le sol contaminé. Dans des sols contaminés aux composés organiques, la remédiation a été supérieure dans les cultures mixtes d'espèces comparativement aux monocultures (Meng et al. 2011, Hechmi et al. 2014). Quant à la phytoremédiation dans des sols contaminés mixtes, la plante hyperaccumulatrice *Sedum alfredii* fut encore une fois étudiée, cette fois-ci avec la graminée *Festuca arundinacea* et la souche de bactéries *Bacillus cereus* JP12 qui sont des dégradeurs du contaminant organique du sol, le BDE-209. Leurs résultats montrent que l'extraction des métaux et la dissipation du BDE-209 étaient à leur maximum lorsque les espèces étaient en combinaison et avec les bactéries (Lu and Zhang 2014).

L'étude de (Wieshammer et al. 2007) a testé la phytoextraction d'une combinaison de *Salix caprea* avec l'hyperaccumulatrice *Arabidopsis halleri*. L'enlèvement de Cd et de Zn n'a pas été promu par la combinaison d'un saule et d'une plante herbacée, compte tenu de la

compétition pour les nutriments et l'eau. Par ailleurs, la disponibilité limitée de l'eau pour chaque espèce peut avoir diminué l'afflux de métaux dissous. Sur le terrain, une compétition moindre pour l'eau et l'extraction des métaux est attendue, puisque les racines des saules pourront croître plus profondément (Wieshammer et al. 2007). Dans une autre expérience, des quantités similaires de Cd et de Zn ont été extraites dans le système de combinaison de l'hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens* et de la graminée *Lolium perenne* que dans les monocultures (Jiang et al. 2010). Utiliser une combinaison d'espèces n'a pas semblé être un avantage. En sol à contamination mixte au 2,4,6-trinitrotoluène (TNT), Cd et Pb, la polyculture et les monocultures de quatre espèces (*Echinochloa crusgalli*, *Helianthus annuus*, *Abutilon avicennae* et *Aeschynomene indica*) ont été étudiées. Toutes les plantes ont rapidement enlevé le TNT peu importe si elles étaient seules ou à l'intérieur de la polyculture. Les effets des combinaisons d'espèces sur la capacité de phytoremédiation sont parfois imprévisibles et de multiples facteurs peuvent influencer les interactions entre les plantes.

Par ailleurs, une étude a montré certains effets négatifs de l'assemblage de certaines espèces sur le potentiel de phytoremédiation. La combinaison de *Festuca arundinacea* et *Medicago sativa* n'a pas enlevé le plus de polychlorobiphényles (PCB) du sol comparativement à *F. arundinacea* en monoculture. Le système contenant les deux espèces a diminué la quantité de biomasses produite par la fétuque, ce qui peut expliquer le résultat. Néanmoins, la combinaison des deux espèces fut le traitement le plus bénéfique pour les bactéries du sol et l'activité enzymatique (Li et al. 2013).

Les différents contaminants, substrats et espèces végétales de chaque étude soulèvent les difficultés de déterminer le potentiel des polycultures en phytoremédiation. Il s'avère essentiel de poursuivre la recherche avec des combinaisons d'espèces adaptées pour le Québec et en sol à contamination mixte.

2. Objectifs de recherche

Plusieurs études portent sur la capacité de plantes en monoculture à remédier un sol contaminé par un seul type de contaminants, mais peu d'entre elles incorporent le potentiel de polycultures dans un contexte de remédiation d'un sol à contamination mixte. Une avenue intéressante à étudier est la combinaison de deux espèces aux aptitudes de phytoremédiation différentes et potentiellement complémentaires pour la remédiation du sol.

L'objectif principal de l'étude est de déterminer si une combinaison entre une plante arbustive et une plante herbacée permet d'obtenir une capacité de phytoremédiation supérieure à celle de ces mêmes espèces en monoculture.

Les objectifs spécifiques du projet sont :

1. Comparer la productivité en biomasse aérienne et racinaire de plantes cultivées en combinaison, ou en monoculture, sur des sols contaminés et non contaminés.
2. Déterminer les effets de la combinaison de deux espèces sur l'extraction des éléments traces et la contamination du sol.
3. Déterminer l'espèce qui performe le mieux en combinaison avec le saule.

3. Hypothèses

La diversité des traits fonctionnels des espèces permet d'utiliser les aptitudes complémentaires de phytoremédiation propres à chaque espèce et d'ainsi obtenir une remédiation plus efficace des sols.

Les hypothèses spécifiques se réfèrent au numéro de l'objectif correspondant.

1. $Biomasse_{contaminé} < Biomasse_{non\ contaminé}$

1.1 La contamination du sol amène une baisse de productivité de la biomasse des espèces.

2. $Accumulation\ métaux_{combinaison} > Accumulation\ métaux_{monoculture}$

2.1. La combinaison de deux espèces permet une plus grande accumulation d'éléments traces dans les parties aériennes et racinaires des combinaisons d'espèces que dans les monocultures.

$Contamination\ sol_{combinaison} < Contamination_{monoculture}$

2.2. La contamination du sol est moindre dans les pots contenant une combinaison de deux espèces.

3. *T. pratense* est attendue comme performant le mieux avec *S. interior*.

4. Approche générale

Mon projet s'inscrit au sein de la Chaire de recherche industrielle CRSNG / Hydro-Québec en phytotechnologie issue d'un partenariat entre l'Université de Montréal, Hydro-Québec, le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG), l'Institut de recherche en biologie végétale (IRBV) et le Centre d'excellence de Montréal en réhabilitation des sols. L'objectif de la Chaire est d'optimiser l'utilisation des phytotechnologies pour répondre aux problèmes environnementaux liés à la génération, au transport et à la distribution d'électricité. Mon projet s'intéresse à la problématique de la contamination du sol dans les sites d'entreposage des poteaux de bois traités.

Ce projet vise à déterminer si l'utilisation de combinaison de deux espèces indigènes ou naturalisées permet de remédier plus efficacement un site à contamination mixte contenant deux produits de préservations de bois (pentachlorophénol et arséniate de cuivre chromaté) que l'utilisation de monocultures. L'utilisation d'espèces indigènes ou naturalisées permet de travailler avec des plantes adaptées aux conditions du Québec qui seront compétitives localement. Par ailleurs, les risques associés à l'introduction d'espèces exotiques tels que l'envahissement par ces espèces et la perte de biodiversité éventuelle dans les sites d'entreposage des poteaux de bois traité peuvent être éliminés. Pour ce faire, une espèce d'arbre, *Salix interior*, et trois espèces de plantes herbacées, *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* et *Festuca arundinacea*, sont mises en polyculture en combinant le saule et une plante herbacée dans un sol à contamination mixte ou un sol non contaminé.

5. Espèces choisies

Une espèce ligneuse (*Salix interior*) et trois espèces herbacées (*Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* et *Festuca arundinacea*) ont été sélectionnées pour cette expérience. Ces espèces ont été choisies pour leurs traits fonctionnels distincts et leur potentiel de croissance dans des terrains du Québec méridional. Le saule intérieur est un arbuste indigène du Québec du genre *Salix* reconnu pour leur forte production de biomasse et leurs racines profondes. Le potentiel des saules en phytoremédiation est bien établi. Leur forte biomasse aérienne peut compenser pour une faible extraction des éléments traces par masse de saules et offrir une valeur ajoutée par la production de biomasse pour créer de l'énergie. Par ailleurs, leurs racines extensives sont très utiles pour la phytoremédiation en stimulant l'activité microbienne et ainsi augmentant la dégradation des contaminants organiques (Wani et al. 2011).

L'achillée millefeuille appartient à la famille des Astéracées et possède une haute surface foliaire spécifique et une efficacité élevée d'assimilation de l'azote photosynthétique (Drenovsky and James 2010).

Le trèfle rouge est une légumineuse fixatrice d'azote de la famille des Fabacées et possède une hauteur maximale de 100 cm et des racines profondes (Storkey et al. 2015).

Enfin, la fétuque élevée est une graminée pérenne de la famille des Poacées et du genre *Lolium*. Elle utilise le chemin de photosynthèse C₃ et possède une hauteur qui peut aller jusqu'à 200 cm (Gibson and Newman 2001). *F. arundinacea* possède un système racinaire fibreux et dense qui peut extraire l'eau du sol jusqu'à plus d'un mètre de profondeur du sol (Garwood and Sinclair 1979).

Chapitre 2 | Functional complementary in phytoremediation of a mixed CCA- and PCP-contaminated soil

Abstract

Phytoremediation potential of a co-planting system between a shrub and an herbaceous species compared to the species in monocultures was evaluated. A greenhouse experiment with a woody species, *Salix interior*, and three herbaceous species, *Achillea millefolium*, *Trifolium pratense* and *Festuca arundinacea* was conducted in a mixed chromated copper arsenate (CCA) and pentachlorophenol (PCP) contaminated soil for 120 days. Plant aboveground and belowground dry mass, trace element concentrations in plant tissues, and soil PCP concentrations were used as metrics of the impact of the treatments. The co-planting did not influence biomass production in all treatments, except for *S. interior* in co-cropping with *F. arundinacea* (SF). A higher total biomass is then expected on the mixed crops system associated with higher phytoremediation potential. Species in polycultures all had equal or superior trace element concentrations in their tissues compared to their monocultures. The polyculture SF led to increased Cr and Cu total uptake in the roots of *F. arundinacea*. However, the death of all *S. interior* individuals in this treatment precluded the formulation of definite interpretations. Treatments effects on PCP dissipation were inconclusive because of the low soil concentrations found at the beginning and at the end of the experiment. The results therefore suggest that the co-planting of a shrub species with an herbaceous species could lead to higher phytoremediation potential than monocultures, and that further investigation is required to identify the most promising plant combinations.

Keywords

phytoremediation, complementarity, co-planting, mixed contaminated soil

1. Introduction

Soil contamination is considered a critical environmental issue by the United States Environmental Protection Agency (US EPA) and the World Health Organization (WHO). Contamination in soils presents risks for the biota and the ecosystems and causes harm to human health as pollutants may leach into drinking water, be present in the atmosphere and can bioaccumulate in the food chain. The increase in industrial, urban and mining activities during the last decades combined with the lack of awareness about the risks of contaminants in the environment have led the development of many contaminated sites all around the world. For example, in Canada (De Sousa 2001) and the United States (Simons 1998), more than 30 000 and 384 400 contaminated sites have been identified respectively. Two types of harmful contaminants are found in soils: trace element and organic compounds. About 40% of contaminated sites have mixed contamination (USGAO 2010) because they are contaminated by both types of pollutants.

Wood preservatives are one example of contaminants that often result in a mixed contaminated soil. Wood is frequently used as a versatile renewable construction material and preservatives are needed to limit the deterioration of the material when used outside and to increase its life expectancy. Land contaminated by wood preservatives requires our attention because of their prevalence world-wide and of the environmental risks associated to soils with multiple contaminants. Wood utility poles are treated with wood preservatives such as pentachlorophenol (PCP) or chromated copper arsenate (CCA). PCP is an organic compound and considered as a priority contaminant by the US EPA due to its persistence, bioaccumulation and toxic impacts in the environment (USEPA 2004). Even though PCP was banned or restricted in many countries since the 1980s (Zheng et al. 2011), it is still of topical interest due to its previous widespread use all around the world as a wood preservative. CCA ($\text{As}_2\text{CrCuO}_9$) is an inorganic compound and is available in three forms: A, B and C. In North America, type C is most commonly used type and contains 47.5% CrO_3 , 18.5% CuO and 34% As_2O_5 (Cooper 1994). Wood poles that had reached their end of service life were previously left on the soil of storage sites where atmospheric precipitation leached the contaminants unto the soil and led to problematic pollutants concentrations (Sudell et al. 1992).

Decontamination of mixed contaminated sites represents a greater challenge than that of soils bearing only one type of contamination as remediation techniques are usually adapted for either inorganic or organic contaminants. Interactions between the multiple contaminants, the soil materials and the microbiota in the rhizosphere complicate the determination of the proper remediation technique and make it hard to predict the fate of the contaminants in the soil. Current methods used for the decontamination of mixed contaminated soils are soil washing, stabilization and solidification in situ, bioremediation in situ and electrokinetic treatment (Sharma and Reddy 2004). Those techniques are expensive and require abundant resources (Cameselle et al. 2013).

Phytoremediation is a non-intrusive method that can treat contaminated soil in situ by taking advantage of the natural properties of plants and their associated microorganisms (Pilon-Smits 2005). High-yielding biomass crops such as willows (*Salix* sp.) and poplars (*Populus* sp.) are often used for phytoremediation (Wieshammer et al. 2007). Phytoremediation of mixed contaminated soils by co-planting of species could offer much potential for remediation thanks to functional complementary and facilitation. Functional complementarity is the result of interspecific interactions that lead to increased resource availability and reduced competition between species by using complementary resources and niche differentiation, or by interspecific facilitation (Tilman et al. 2001). Niche differentiation and facilitation are considered to be part of the complementarity concept, because of the difficulty of distinguishing those mechanisms in the environment (Loreau and Hector 2001). Different phytoremediation abilities could lead to a more efficient accumulation of contaminants because species have distinct extraction characteristics and affinities for contaminants (An et al. 2011, Yang et al. 2017, Desjardins et al. 2018, Zeng et al. 2019). Increased productivity has also been observed in diverse co-planting system (Hooper et al. 2005, Spehn et al. 2005, Smith et al. 2008) due to a possible complementarity mechanism between species (Cardinale et al. 2007). Previous studies have further highlighted that interactions between species lead to some resistance against stress in highly stressed environment (Michalet et al. 2006, Li et al. 2014, Wang et al. 2014, Craven et al. 2016).

However, little is known on the interspecific positive mechanisms in a co-planting system between a high-yielding biomass crop and a potential trace element accumulator species and

how they could enhance phytoremediation compared to species growing in monocultures. The aim of the study was to assess the effects of a co-cropping system between a high-yielding biomass woody species and an herbaceous species on plant growth, the phytoextraction of As, Cr and Cu, and the degradation of PCP in a contaminated soil. To achieve this objective, a greenhouse study was conducted with four native or naturalized Canadian species selected for their diverging functional traits and their ability to grow in brownfields and in southern Canada. We hypothesized that the co-cropping systems will have better phytoremediation potential than monocultures with the same plants.

2. Methods

2.1 Experimental setup

A pot experiment was carried out in greenhouse facilities of the Montreal Botanical Garden (latitude = 45.563788 N, longitude = 73.562837 W, altitude = 26 m) for a period of 120 days, from May 4th to September 4th, 2018. Pots (diameter of 28 cm and height of 30.9 cm) were filled at 75% volume capacity with a PCP- and CCA-C spiked and artificially constructed soil.

The *Salix interior* Rowlee (S) and three naturalized herbaceous species, *Achillea millefolium* L. (A), *Trifolium pratense* L. (T) and *Festuca arundinacea* Scherb. (F) were grown in monocultures and in polycultures (*S. interior* with each herbaceous species) in a randomized complete block design with eight treatments: an unplanted control (C), four monocultures (S, A, T and F) and three polycultures (SA, ST and SF). All species have diverging traits that could be fit for phytoremediation. The willow *S. interior* is expected to accumulate significant amounts of trace element as a high-yielding biomass crop, *A. millefolium* has a high specific leaf area which is promising for phytoextraction and spontaneously grow near heavy metals contaminated soils (Murtic et al. 2019), *T. pratense* is a nitrogen fixing plant which is used to enhance the productivity of the other species in the co-planting treatments and the extensive root system of *F. arundinacea* could enhance the PCP dissipation by increasing microbial activity. Each treatment was replicated 6 times for a total of 48 pots. All pots (including the controls) were watered three times a week to keep the soil near field capacity to ensure sufficient water in the root zone. Air temperature was also controlled in the greenhouse to match outdoor

temperatures ranging approximatively from 15 to 30°C. The herbaceous species were sown on May 7th, 2018 with 0.0044, 0.21 and 2.3 g of seeds for *A. millefolium*, *T. pratense* and *F. arundinacea*, respectively, following the agricultural guidelines provided by the commercial nursery. One cutting of *S. interior* was planted per pot in its monoculture or polyculture, four weeks later, on June 4th, 2018.

The soil was artificially constructed to match brownfields soil with 50% volume of calcareous stone dust, 25% of topsoil, 12.5% of sand and 12.5% of 6.35 mm construction limestone gravel all mixed together. The initial properties of the soil material were (n = 3): pH 7.53, C/N ratio 172.92, total P 653 mg kg⁻¹, total K 803 mg kg⁻¹, CEC 10.04 cmol(+) kg⁻¹, sand 83%, silt 14% and clay 2%. This soil was subsequently spiked with crystals of PCP (97% grade purity) and liquid CCA-C (47.5% CrO₃, 18.5% CuO and 34% As₂O₅) one year prior to the beginning of the experiment. Both compounds were added to the surface of the soil in 130 liters containers. PCP was introduced in the soil with the use of a surfactant, cocamidopropyl betaine. Cycles of wetting/drying were repeated for seven weeks by watering every other day to mimic the aging process of contaminants in the soil. Soil was stored in closed containers for eight months and then thoroughly mixed to maximize homogeneity. Initial contaminant concentrations (mg kg⁻¹, n = 6) of the experimental soil were: As 37±7, Cr 26±3, Cu 28±6 and PCP 0.20±0.08. Contaminant concentrations were selected to imitate the concentrations found on moderately contaminated treated wood preserving sites. Initial soil contamination was assessed by ICP-MS for trace elements and by GC-MS for phenols (Maxxam Analytics, Montréal, QC) according to standard protocols and following quality control-quality assurance (QC/QA) procedures. The limit of detection (LoD) for As, Cu, Cr and PCP were 5.0, 2.0, 2.0 and 0.10 mg kg⁻¹, respectively.

2.2 Soil and plant tissue analysis

Plants were harvested 120 days after the beginning of the experiment to assess biomass yield and the concentration of contaminants in plant tissues. At sampling, all plants were washed three times with deionized water and were separated into leaves, stems and roots for *S. interior* and into aboveground and belowground parts for the three herbaceous species. All plant parts were oven-dried at 65°C to constant mass.

In each pot, the individual plant part of each species was sampled for plant tissue analysis. Plant tissue was first grounded to a fine powder. A 200 mg subsample of plant tissue was mixed with 2 mL of trace metal grade HNO₃ 70% (V/V) in a 15 mL tube and left overnight in the cooling block under the fume hood. Tubes were then put in a heat block KB40S Kjeldatherm® Gerhardt digester for 5 hours at 120°C and its content was transferred to 50 mL Falcon® tubes that were filled with MilliQ Water to obtain a volume of 50 mL. The diluted digestion samples were filtered through 0.45 µM nylon in-line filters and diluted 2 times before analysis. The QC/QA procedure involved the use of one external control material (tomato powder) replicated two times and of two blanks per analytical batch. Trace elements (As, Cu and Cr) concentrations in plant tissues were analyzed using ICP-MS as for soil materials.

At the end of the growing season, a composite soil sample was put together from three subsamples collected in the layer located 5 to 15 cm below the surface, in the root zone, in each pot. The PCP concentrations were analyzed in those samples using GC-MS by Maxxam Analytics (Montréal, QC) following the same protocol as for the initial PCP concentration in the soil.

2.3 Data calculation

The bioconcentration factor (BCF) was calculated for each pot as the ratio of trace element (As, Cu, and Cr) concentration in plants to the trace element concentration in the soil (5 to 15 cm layer) at the beginning of the experiment. The BCF was calculated for each plant part using leaves, stems and roots for *S. interior*, and total aboveground parts and roots for the herbaceous species. Metal-accumulating species have BCF > 1 and better phytoremediation abilities are expected as the ratio increases (Balabanova et al. 2015).

The total trace element accumulation by plants in a given pot (mg TE pot⁻¹) was computed for each trace element and plant species. For the monoculture treatments, TE accumulation during the experiment was calculated by summing the products of the biomass yield (kg pot⁻¹) multiplied by the tissue trace element concentration (mg kg⁻¹) for each plant parts in a pot. For the co-cropping treatments, the TE accumulation values for each plant species in the treatment were summed (mg TE pot⁻¹). TE accumulation values were only computed when biomass for each part of each species in a pot were over 200 mg and had been analyzed for TE

concentrations. A notable exception was the SF treatment as all *S. interior* died. The SF treatment was therefore represented by the *F. arundinacea* TE accumulation.

PCP dissipation (%) is defined by the change in PCP concentration following various biological and environmental factors (Smith et al. 2007). PCP dissipation was calculated after 120 days of cultivation by the following equation:

$$PCP\ dissipation\ (\%) = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} \times 100\%$$

where C_i was the mean PCP concentration value in the soil at the beginning (mg kg^{-1}) and C_f was the residual PCP concentration by treatment at the end of the experiment (mg kg^{-1}).

Mean PCP concentrations at the end of the experiment were compiled using the PCP concentrations associated with the same pots as for TE accumulation. Using only PCP concentrations in pots where all species parts had at least 200 mg was done to decrease bias and to ensure sufficient treatment effect on soil contamination. This way, the analysis was conducted on the same pots as the total trace element accumulation by plants. Once again, an exception was done with SF treatment as it was still represented even with the death of all *S. interior* in the combination.

2.4 Statistical analysis

A mixed linear model, with block as a random effect, was used to assess the effect of species on three response variables: plant trace element concentration (mg TE kg^{-1}), plant trace element accumulation (mg TE pot^{-1}) and residual soil PCP concentration (mg kg^{-1}). A square root transformation was applied when needed to meet model assumptions. Post-hoc tests were performed using Tukey HSD's test and group differences were deemed significant when $p < 0.05$. Statistical analyses were conducted with the R open source software version 3.4.4 (R Development Core Team 2019).

3. Results

3.1 Plant establishment and biomass production

S. interior cuttings were planted four weeks later than the seeding of the herbaceous species. All *S. interior* cuttings co-planted with *F. arundinacea* died within the first 84 days of the

experiment. Nonetheless, the results from this treatment are presented as it is highly possible that the growth of *S. interior* for several weeks had a significant impact on *F. arundinacea* in the co-cropping mixture. Establishment of *A. millefolium* (n = 6) at the end of the experiment was only successful in 50% of the pots irrespective of the treatment (Table 2.1). *Salix interior* also had some establishment difficulties with a rate of 50% (n = 6) in SA and of 83% (n = 6) in both the ST and SF treatments. At the end of the experiment, the absence of a plant in a pot led to exclusion of its corresponding treatments from data analysis to reduce bias. Overall, successful establishment was still noted in most pots and all species were able to tolerate the PCP- and CCA-contaminated soil under the concentration levels found in this study.

Table 2.1 Establishment rate (%) and presence at the end of the experiment (%) of *S. interior* (S), *A. millefolium* (A), *T. pratense* (T) and *F. arundinacea* (F) in all monoculture or co-planting treatments (n = 6).

	<i>S. interior</i>				<i>A. millefolium</i>		<i>T. pratense</i>		<i>F. arundinacea</i>	
	S	SA	ST	SF	A	SA	T	ST	F	SF
% establishment	100	50	83	83	50	50	100	83	100	100
% presence (d = 120)	83	50	83	0*	33	50	100	83	100	100

*All *S. interior* died within the 84th day of the experiment.

Co-planting of *S. interior* with both *A. millefolium* and *T. pratense* showed no significant differences in leaves, stems and belowground biomass yields compared to monocultures after 120 days (Figure 2.1). Dry weight of *A. millefolium* displayed no significant differences in A (n = 2) or SA (n = 3) treatments in both aboveground and belowground parts. However, dry biomass of belowground parts of *T. pratense* in both monoculture (2.7±2.9 g), and co-planting treatments with *S. interior* (1.4±0.9 g) were significantly lower from the aboveground parts of *T. pratense* grown as a monoculture (13.1±12.2 g). *F. arundinacea* produced high biomass yield and significantly greater yields in the aboveground (51.3±11.3 g F and 50.1±8.7 g SF) compared to the belowground parts (25.5±7.2 g F and 33.6±10.3 g SF), but co-planting did not influence results. Overall, no significant biomass differences were observed whether species were grown in monoculture or in co-planting.

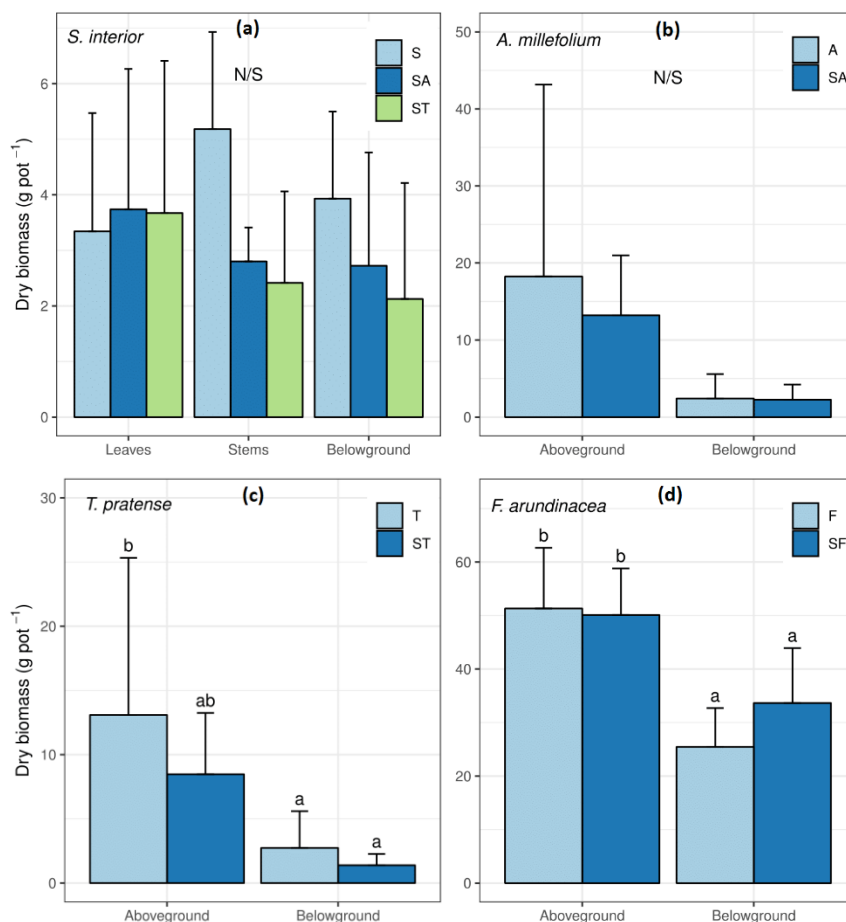


Figure 2.1 Mean (with standard deviation) dry biomass (g dry weight pot⁻¹) in aboveground (leaves + stems for *S. interior* only) and belowground (roots) tissues for co-planting treatments involving (a) *S. interior*, (b) *A. millefolium*, (c) *T. pratense* and (d) *F. arundinacea* after 120 days of growth in a contaminated soil. Means with different letters indicate significant differences based on the Tukey's LSD ($p < 0.05$) test. Data for the *S. interior* with *F. arundinacea* co-planting treatment (SF) are not presented for *S. interior* (panel A) because all *S. interior* died within the 84th day of the experiment.

3.2 Trace element concentration

For *S. interior* plant tissues, As and Cu concentrations were significantly higher in roots compared to leaves and stems, regardless of the planting treatment (Figure 2.2). For Cr concentrations in *S. interior*, a significant difference was found in belowground tissues when co-planted with *T. pratense*. The concentration (14.9 ± 6.1 mg kg⁻¹) was approximately three times higher than for both leaves and stems for all treatments and for belowground tissue of *S. interior* growing in a monoculture (4.7 ± 1.4 mg kg⁻¹). *Achillea millefolium* displayed no significant effect of co-planting or plant parts on As and Cr concentrations. A higher accumulation of Cu in *A. millefolium* belowground parts was however observed irrespective of

the planting treatment. Co-planting of *T. pratense* with *S. interior* enhanced the accumulation of As and Cu in belowground tissues as opposed to aboveground parts for both T and ST treatments. No significant differences were found for the Cr concentrations of *T. pratense*, although co-planting with *S. interior* seems to have increase Cr concentrations in both aboveground and belowground tissues. Co-planting of *S. interior* with *F. arundinacea* did not significantly affect the uptake of As or Cu. For Cr, co-planting increased uptake in belowground parts. Trace element concentrations in *F. arundinacea* were always higher in belowground parts.

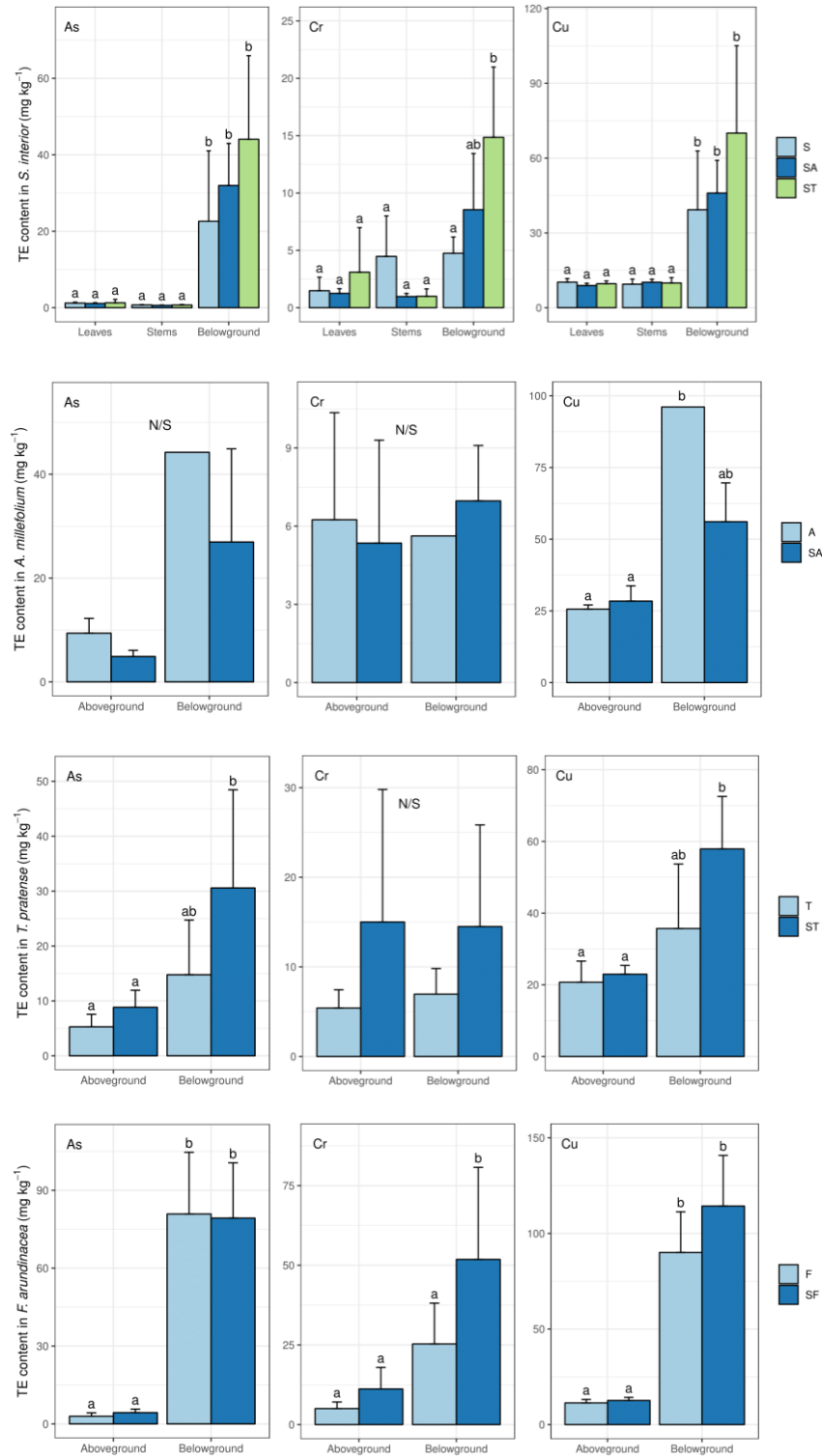


Figure 2.2 Mean (with standard deviation) trace element concentrations (mg TE kg^{-1}) in aboveground (leaves and stems for *S. interior*) and belowground (roots) tissues for co-planting treatments involving *S. interior*, *A. millefolium*, *T. pratense* and *F. arundinacea* after 120 days of growth in a contaminated soil. Means with different letters indicate significant differences based on the Tukey's LSD ($p < 0.05$) test. Data for the *S. interior* with *F. arundinacea* co-planting treatment (SF) are not presented for *S. interior* because all *S. interior* died within the 84th day of the experiment.

3.3 Bioconcentration factor (BCF)

Salix interior leaves and stems had very low BCF values for all trace elements (Table 2.2). *Salix interior* in the ST treatment, *A. millefolium* in monoculture and particularly *F. arundinacea* in both the F and SF treatments had high roots BCF for As at 1.19, 1.20, 2.19 and 2.14, respectively. Other treatments had notable belowground BCF for As such as *S. interior* in S (0.61) or SA (0.86), *A. millefolium* in SA (0.73) and *T. pratense* in ST (0.83). With respect to the BCF of As in aboveground parts, no species stood out in this experiment. Data also showed that *F. arundinacea* had high BCF for Cr in roots at 0.97 (F) and 1.99 (SF) (Table 2.2). For Cu, BCF > 1 are reported for all treatments in belowground parts. *A. millefolium* in the SA treatment also stood out with a Cu BCF of 1.02 in aboveground parts.

Table 2.2 Bioconcentration factor (BCF = [element] plant / [element] initial soil) for As, Cu and Cr in leaves and stems for *S. interior* (S), aboveground tissues for *A. millefolium* (A), *T. pratense* (T) and *F. arundinacea* (F), and in roots for all plant species for all monoculture and co-planting treatments. BCF values larger than 1 are in bold character to stress the potential of this plant-element combination for phytoextraction (aboveground biomass) or phytostabilization (belowground biomass). BCF are in italic when values fall between 0.50-0.99 to represent possible efficiency for phytoextraction or phytostabilization.

	As		Cr		Cu	
	leaves/stems aboveground	belowground	leaves/stems aboveground	belowground	leaves/stems aboveground	belowground
<i>S. interior</i>*						
S	0.03/0.02	<i>0.61</i>	0.06/0.17	0.18	0.37/0.34	1.40
SA	0.03/0.02	<i>0.86</i>	0.05/0.04	0.33	0.32/0.37	1.64
ST	0.03/0.02	1.19	0.12/0.04	<i>0.57</i>	0.34/0.35	2.50
<i>A. millefolium</i>						
A	0.31	1.20	0.35	<i>0.22</i>	<i>0.88</i>	3.43
SA	0.13	<i>0.73</i>	0.21	<i>0.27</i>	1.02	2.00
<i>T. pratense</i>						
T	0.14	0.40	0.21	<i>0.27</i>	<i>0.74</i>	1.28
ST	0.24	<i>0.83</i>	0.58	<i>0.56</i>	<i>0.82</i>	2.07
<i>F. arundinacea</i>*						
F	0.08	2.19	0.19	<i>0.97</i>	0.41	3.22
SF	0.12	2.14	0.43	1.99	0.45	4.08

* Data for the *S. interior* with *F. arundinacea* co-planting treatment (SF) are not presented for *S. interior* because all *S. interior* died within the 84th day of the experiment.

3.4 Trace element accumulation in plants

On a pot basis, co-planting of *F. arundinacea* with *S. interior* accumulated the highest amounts of As, Cr and Cu, especially in the belowground parts (Figure 2.3). A significant effect was

found although *S. interior* cuttings did not last until the end of the experiment. Overall the most efficient treatments (Tukey, $p < 0.05$) for total As removal from the soil were F and SF with 2.32 ± 1.19 and 2.73 ± 0.43 mg As pot⁻¹, respectively. The same two treatments stood out with 2.37 ± 1.08 and 3.73 ± 1.01 mg Cu pot⁻¹ accumulated in their roots. Total accumulation of Cu, mainly in the roots, was also the most efficient in those treatments with 2.96 ± 1.11 and 4.36 ± 0.99 mg Cu pot⁻¹. Root accumulation of Cr was 1.56 ± 0.49 mg pot⁻¹ in SF treatment and was significantly different from all other treatments for belowground tissues. SF was the most efficient treatment for total Cr accumulation by pot with a maximum value of 2.09 ± 0.28 mg Cr pot⁻¹. Total accumulation of *F. arundinacea* co-planting with the *S. interior* was strongly controlled by the root accumulation of *F. arundinacea* for the three trace elements.

As for the aboveground parts, *A. millefolium* in monoculture performed well in accumulating As in aerial tissues and extracted 0.41 mg As pot⁻¹ whereas the mean of all treatment for aboveground As accumulation was 0.13 ± 0.11 mg As pot⁻¹. High Cr accumulation in aboveground parts was found in A and SF treatments with values of 0.33 and 0.53 ± 0.30 mg Cr pot⁻¹, but not significantly different from each other. High aboveground accumulation of a trace element was encountered within *A. millefolium* with 0.88 mg Cu pot⁻¹ compared to the mean of other treatments (0.46 ± 0.26 mg Cu pot⁻¹), but was not significantly different. Mean root accumulation of Cu was 1.47 ± 1.65 mg Cu pot⁻¹ for all treatments.

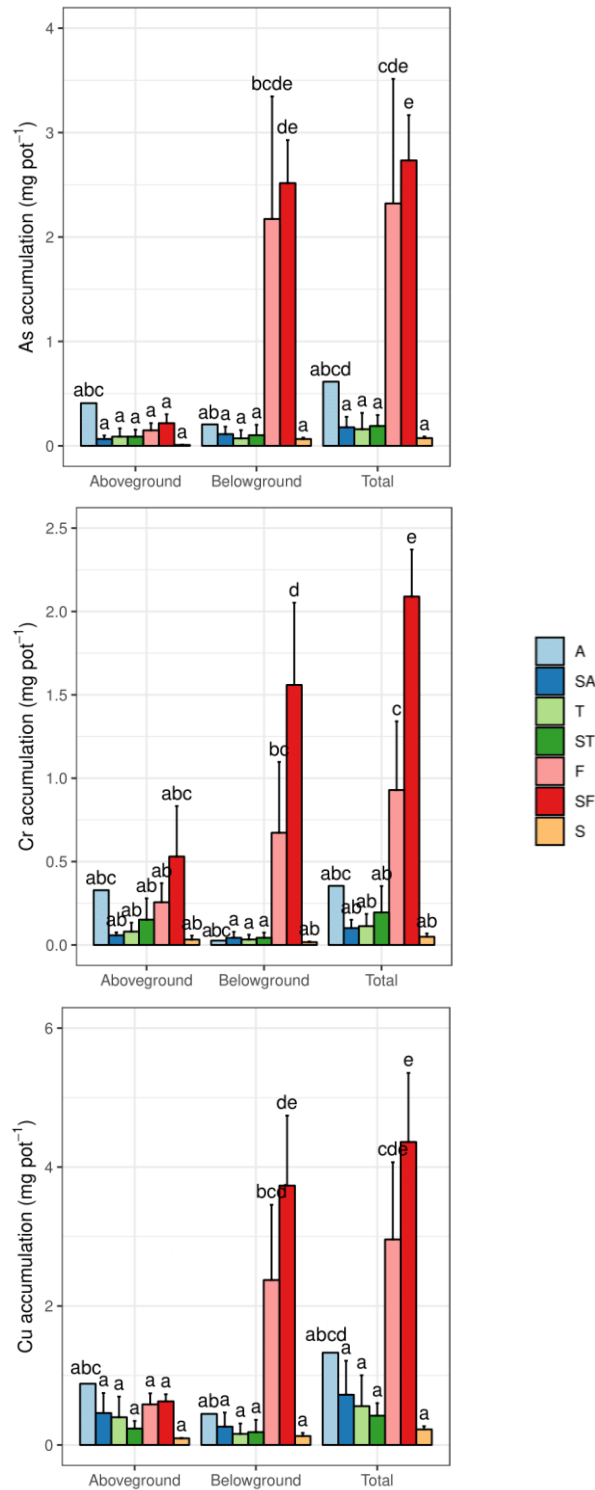


Figure 2.3 Mean (with standard deviation) trace element accumulation by all plants (mg TE pot⁻¹) in aboveground (leaves and stems for *S. interior*), belowground (roots) and total tissues for co-planting treatments involving *S. interior* (S), *A. millefolium* (A), *T. pratense* (T) and *F. arundinacea* (F) after 120 days of growth in a contaminated soil. Means with different letters indicate significant differences based on Tukey's LSD ($p < 0.05$) test. Data for the *S. interior* with *F. arundinacea* co-planting treatment (SF) include only *F. arundinacea* because all *S. interior* died within the 84th day of the experiment.

3.5 PCP dissipation in soil

PCP dissipation in soil was observed in all treatments, ranging from 8% to 36% dissipation without significant differences observed between the treatments (Figure 2.4). Of note, the PCP concentrations in the soil at the end of the experiment were very low and values fell under the LoD of 0.10 mg kg⁻¹ in some pots. PCP dissipation even occurred in the unplanted pot during the experiment.

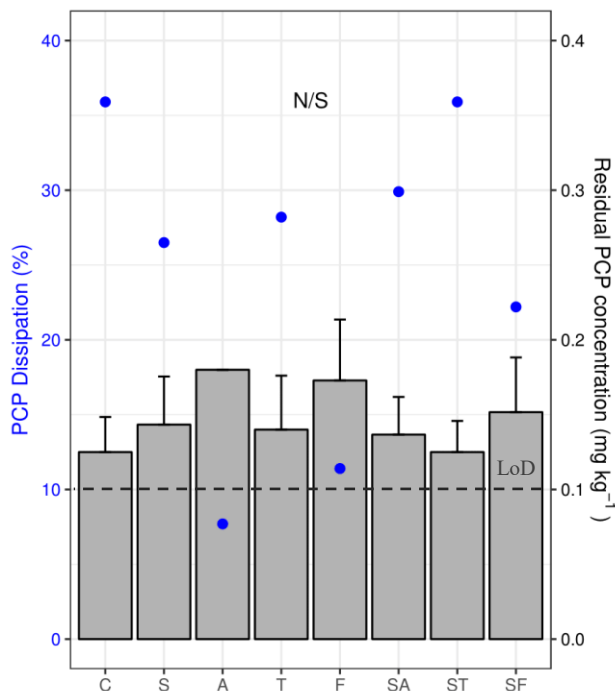


Figure 2.4 Mean (with standard deviation) PCP dissipation (%) and PCP residual concentration (mg kg⁻¹) in the soil after 120 days of growth in a contaminated soil for co-planting treatments involving *S. interior* (S), *A. millefolium* (A), *T. pratense* (T) and *F. arundinacea* (F). The dots represent PCP dissipation (%) whereas the histogram shows the residual PCP concentrations (mg kg⁻¹). The dashed line indicates the limit of detection of 0.10 mg kg⁻¹. N/S indicates no significant difference based on Tukey's LSD ($p < 0.05$) test. Note that all *S. interior* died within the 84th day of the experiment in the co-planting treatment with the *F. arundinacea* (SF).

4. Discussion

Co-planting of a woody species with an herbaceous species had no effect on the biomass production of the individual species, except for the generalized death of *S. interior* co-planted with *F. arundinacea*. Therefore, the total biomass of the co-planting system is expected to be higher than the biomass of monocultures with the same plants. Some positive impacts occurred on the total accumulation of trace element in the mixture of *F. arundinacea* with *S. interior*. However, the death of *S. interior* in the mixture precluded the formulation of definite

conclusions. No effect could be highlighted on the PCP dissipation in the soil between the combination of two species over a monoculture under the concentrations tested in this study. Nonetheless, co-planting of a shrub, *S. interior*, with a species with different traits, such as *F. arundinacea* may still lead to higher phytoremediation potential because of positive feedback mechanisms between the species.

4.1 Plant productivity

Over the 120 days experiment, co-planting did not impact the biomass production for *S. interior*, *A. millefolium* and *T. pratense* which is a leading point toward the potential of mixed crops in phytoremediation. Higher total dry weight by pot is expected in co-cropping mixtures as the presence of another species did not decrease the biomass of the other species. This study was however unable to corroborate the earlier findings of increased biomass in higher plant diversity cultures (Hector et al. 1999, Smith et al. 2008). Woody species grown with herbaceous species are expected to increase the biomass production of the latter by increasing nutrient availability (Ni et al. 2018). The challenging establishment of *A. millefolium* and of some *S. interior* in the pots may also be responsible for the high standard deviation of dry weight as sample size was limited which, in turn, could explain the lack of significant effect of the co-cropping on the biomass production. Increasing the number of seedlings of *A. millefolium* sown is expected to solve the occurrence problem as some did not establish in some pots.

Establishment of the four-plant species studied here was satisfactory under the levels of CCA and PCP of the soil. High competition for resources in restricted growth space may be responsible for the death of all *S. interior* in the SF treatment. Earlier establishment of *F. arundinacea* and seeding four weeks before *S. interior* is believed to have given enough time for the grass to develop an extensive root system and compromise the development of *S. interior*. The extensive colonization of *F. arundinacea* roots and their expanded presence on all walls of the pots by the end of experiment was evident during harvest. Willow cuttings were introduced in an environment already colonized by a competitive plant which resulted in poor survival of *S. interior* when combined with *F. arundinacea*. Even though the use of willow cuttings is expected to lead to rapid establishment, *S. interior* is a native willow that is less productive than some fast-growing *Salix* hybrid cultivars used as energy crops. We nonetheless decided to

present the results of the co-planting of *F. arundinacea* and *S. interior* for the grass since the willow probably influenced the pot environment while growing besides the grass for several weeks. Further studies investigating the potential of woody species co-planted with herbaceous species should consider that less competitive species should be introduced first to allow proper establishment of all plants in the polyculture.

The use of the nitrogen fixing *T. pratense* was expected to have a positive effect on the growth of *S. interior* by introducing additional nitrogen into the pot, but nitrogen was not measured in this experiment. Willows growing in low fertility soils are expected to benefit from the presence of a nitrogen fixing species (Moukoui et al. 2012). Nevertheless, no beneficial impact was found during this experiment. The use of the native *S. interior* may also be responsible for the null effect because it produces less biomass than other willow cultivars (Zamora et al. 2014). Lower biomass production might have limited the impact on the growth of the other co-cropping species over the 120 days cultivation time that other willows would had. Further studies are advised to follow up the experiment on the field and over an extended period to let all the species established and to observe interspecific interactions over a duration that is closer to real life phytoremediation in the field.

Differences between the aerial parts and the roots dry weight were also investigated for each plant as resources allocation varies between those two parts. Biomass production is directly linked to resources availability. Light, CO₂, water access and soil nutrients drive the biomass allocation between leaves, stems and roots (Poorter and Nagel 2000). In this study, we were unable to find statistical difference between co-planting and monoculture with respect to the amount of aboveground or belowground biomass. Co-cropping did not seem to have a significant impact on the biomass allocation of the plants. The lack of difference between aboveground and belowground parts biomass in some species could be attributed to the limited sample size due to non-establishment in certain pots.

4.2 Plant uptake of trace element

Willows are widely used in phytoremediation for their high biomass production. *Salix interior* extracted higher As and Cu concentrations (mg kg⁻¹) in its belowground tissues as consistently reported for some trace elements in willows in a field study (Pitre et al. 2010). A previous study

showed that the uptake of As is done predominantly in roots of willows and highlighted the plant incapacity to translocate this element in harvestable parts (Tlustoš et al. 2007). The presence of *T. pratense* had a beneficial effect on Cr uptake in the roots of *S. interior*. *T. pratense* could have possibly lowered the pH of the soil by releasing H⁺ in the soil from its roots exudates which led to increased bioavailability of trace element (An et al. 2011, Xiong et al. 2018) for *S. interior*. A BCF value in roots of *S. interior* in ST treatment of 1.19 indeed stresses the potential of this combination for the phytostabilization of Cr. In aerial parts, no plant exhibited potential of phytoextraction of Cr, as could be expected. Indeed, Cr ions inside the cells of a plant are sent in the form of metal-chelated compounds in the root cell vacuoles (Panda and Choudhury 2005) which results in low translocation to aboveground tissues (Quaggiotti et al. 2007). Furthermore, in all other cases, the presence of herbaceous species did not reduce the uptake of As, Cr and Cu by *S. interior* which suggests that an increase in total trace element uptake is expected in co-planting treatments because of the increase in total biomass per unit surface area in co-planting and not an increase in trace elements concentrations in plant tissues. In this case, biomass production should be the priority to improve the phytoremediation potential of the co-planting system. We also investigated the effect of *S. interior* on the trace element uptake of three herbaceous species. First, co-planting did not impact the uptake of any trace elements in aboveground or in belowground tissues of *A. millefolium* and *T. pratense*. The forb *A. millefolium* exhibited some potential for the phytostabilization of As with root BCF values over 0.50 in co-planting and over 1 in monoculture. In the co-planting of *S. interior* and *F. arundinacea*, the grass was impacted by the woody species and accumulated twice the concentrations of Cr in its belowground parts compared to the monoculture. The release of H⁺ in the soil by *S. interior* could have led to an increased bioavailability of Cr for *F. arundinacea*. BCF in both treatments for the roots of *F. arundinacea* showed that it is a good candidate for the phytostabilization of Cr. Overall, high BCF ratios were observed in belowground tissues of all species for Cu. Ranging from 1.28 to 4.08 for all treatments, all plants could thus be considered potential candidates for the phytostabilization of Cu.

4.3 Complementarity of co-planting for mixed contaminated soil remediation

Accumulation of trace element in the plant tissues (mg TE pot⁻¹) and PCP dissipation in the soil were chosen to assess the potential of *S. interior* in combination with an herbaceous species in a mixed contaminated soil. Those two tools provide comparison between the treatments studied in this experiment.

A clear potential in this phytoremediation experiment was found within three treatments: SF, F and A for the three trace elements studied. Combined cropping of *S. interior* with *F. arundinacea* clearly illustrated a higher remediation capability of trace elements in the mixed contaminated soil than all the other treatments. While the effects of short growth period of *S. interior* mixed with *F. arundinacea* before dying are unclear, it appears to have benefited the herb. This scenario was the most robust among all the estimation scenarios studied under the study conditions. Increased positive interactions between species are expected in stressed environments (Bertness and Callaway 1994, Brooker and Callaghan 1998) which was tested on field studies (Callaway et al. 2002, Gómez-Aparicio et al. 2004) such as contaminated soil. It is unclear what mechanisms have benefited *F. arundinacea* in the mixture with *S. interior*. Positive effects of plant diversity may reside in different patterns of resource acquisition and use, complementarity or facilitation between species (Loreau and Hector 2001). Complementarity in belowground space between a tree and a grass species has been hypothesized in another study (Van Noordwijk et al. 2015). In this case, the extensive root system of *F. arundinacea* competed too much with *S. interior*, but earlier establishment and unlimited growth space of the shrub could lead to complementary trace element accumulation in tissues between the two species. Furthermore, different root patterns could lead to positive mechanisms benefiting both species in the microbiome by decreasing niche overlap (Dimitrakopoulos and Schmid 2004, Li et al. 2006), allowing more roots space and increasing productivity (de Kroon et al. 2012). In a full-scale phytoremediation project with field conditions, it is expected that the willows profound roots would benefited the species with less competition for water access and trace element uptake (Wieshammer et al. 2007). *Salix interior* in single co-cropping performed as expected with limited trace element accumulated in its aboveground tissues. However, certain species of *Salix* can transfer higher amount of trace element from their belowground parts to their

aboveground parts (Robinson et al. 2000, Pulford and Watson 2003, Vyslouzilova et al. 2003). High harvesting potential compensate for the willows lower accumulation of trace element compared to the hyperaccumulators plant species (Meagher 2000). Furthermore, fast-growing trees have an important transpiration activity and a deeper root system as opposed to herbaceous species (Tlustoš et al. 2006). As mentioned earlier, low biomass was observed in the native plant over the short period of cultivation. This explained the reduced performance of the monoculture of the woody specie as compared to other treatments. Follow up studies should opt for longer cultivation period to mimic a real-life scenario because phytoremediation is often performed over the course of many years.

Among single plant treatment, *F. arundinacea* was the leading treatment amongst others for belowground and total accumulation for all three trace elements. There is high potential of phytostabilization of *F. arundinacea* in a mixed CCA- and PCP-contaminated soil. Furthermore, *A. millefolium* stood out in aboveground accumulation potential as a single crop. High specific leaf area is reported in literature for the forb *A. millefolium* and might explain the high aboveground accumulation as more resources is allocated on the aboveground tissues which results in higher biomass production. Lower establishment success in the pots led to little accumulation levels. Consequently, more studies are needed to assess the potential use of *A. millefolium* in a mixed contaminated soil and its potential in a co-planting system. The T and ST treatments were consistently the least efficient in accumulating trace elements. This result is somewhat surprising as *T. pratense* as a nitrogen fixator was expected to increase productivity of *S. interior* and possibly enhanced the absolute amount of trace elements in the shrub tissues.

Similar studies have shown the potential of plant diversity for phytoremediation. Desjardins et al. (2018) found that co-cropping of three species with different functional traits was the most robust scenario for the remediation of soils containing multiple trace element. High phytoremediation potential has also been recently assessed for co-planting of a hyperaccumulator species, *Pteris vittata* Linn., and three contaminant tolerant species (Zeng et al. 2019). Functional complementarity in phytoremediation could be the answer to both the complexity of multiple contaminant remediation and their distribution in the soil (Van der Perk 2013, Zhao et al. 2014). A complete assessment of treatment potential of a mixed contamination

soil must consider the dissipation of PCP in addition to the absolute amount of trace element in the various monoculture and mixtures.

Knowing what is left in the soil after the phytoremediation process is essential to assess the efficiency of co-planting on the soil remediation compared to monocultures. All treatments exhibited a decrease of PCP over time with no specific effect of co-planting. Surprisingly, no difference was found between the planted treatment and the control. Rhizospheric soils are expected to stimulate degradation of organic contaminants compared to unplanted soils (Mills et al. 2006). In He et al. (2005) and Nakamura et al. (2004) studies, the rhizosphere of plants have increased PCP degradation in soil and therefore suggest the ability to remove PCP is linked with greater microbial activity. In general, the degradation of an organic compound in the soil is increased by the plant enzymes, soil microorganisms and the release of roots exudates (Urrutia et al. 2013). In a PCP-contaminated soil, dehalogenases are plant enzymes that have potential to transform this type of compound (Lin et al. 2006). The lack of differences in the planted and unplanted pot may be explained by the presence of soil microorganism in the soil which had more impact on the dissipation of PCP than other factors related to the plants. Furthermore, the low concentrations of PCP, many being under the limit of detection of the method, could have an impact in this study. This situation may have led to normalized PCP concentrations results which could explain why no difference was found between the treatments. PCP is also moderately persistent in the environment with its field half-life of 45 days (Beckers et al. 1994) which, in turn, could explain the decrease in all pots independent on treatments. *S. interior* was expected to remove more PCP in the soil in accordance to the literature which point *Salix* are promising candidates for PCP dissipation (Mills et al. 2006). However, it did not stand out in this study possibly because of the low biomass production of the willow.

5. Conclusion

The main goal of the present study was to determine the potential of co-planting between a woody crop and herbaceous species to phytoextract trace elements and to dissipate PCP from a mixed contaminated soil. The mixture of *F. arundinacea* and *S. interior* showed high accumulation potential in the grass tissues for all three trace elements as compared to all monoculture treatments in the CCA- and PCP-contaminated soil. The present study provides

additional evidence that using species with different traits could potentially be beneficial by increasing the accumulation of trace elements. The current investigation was limited by the death of all *S. interior* in combination with *F. arundinacea* due to the establishment sequence and the low concentrations of PCP which led to incapacity of distinguish co-cropping effects. Further research should focus on the effect of co-planting in a field experiment and include higher organic and inorganic contaminants concentrations.

Acknowledgments

This research was financed by the NSERC / Hydro-Québec Research Chair in Phytotechnology.

References

- An, L., Y. Pan, Z. Wang, and C. Zhu. 2011. Heavy metal absorption status of five plant species in monoculture and intercropping. *Plant and Soil* **345**:237-245.
- Balabanova, B., T. Stafilov, and K. Bačeva. 2015. Bioavailability and bioaccumulation characterization of essential and heavy metals contents in *R. acetosa*, *S. oleracea* and *U. dioica* from copper polluted and referent areas. *Environmental Health Science & Engineering* **13**:2-2.
- Beckers, P., A. Hornsby, and R. Wauchope. 1994. SCS/ARS/CES Pesticide properties database for environmental decision-making II. Additional Properties Reviews of Environmental Contamination and Toxicology **137**:1-82.
- Bertness, M. D., and R. Callaway. 1994. Positive interactions in communities. *Trends in Ecology & Evolution* **9**:191-193.
- Brooker, R. W., and T. V. Callaghan. 1998. The balance between positive and negative plant interactions and its relationship to environmental gradients: a model. *Oikos* **81**:196-207.
- Callaway, R., R. Brooker, P. Choler, Z. Kikvidze, C. J. Lortie, R. Michalet, L. Paolini, F. Pugnaire, B. Cook, and E. Aschehoug. 2002. Interdependence among alpine plants increases with stress: a global experiment. *Nature* **417**:844-848.
- Cameselle, C., R. A. Chirakkara, and K. R. Reddy. 2013. Electrokinetic-enhanced phytoremediation of soils: status and opportunities. *Chemosphere* **93**:626-636.
- Cardinale, B. J., J. P. Wright, M. W. Cadotte, I. T. Carroll, A. Hector, D. S. Srivastava, M. Loreau, and J. J. Weis. 2007. Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**:18123-18128.
- Cooper, P. 1994. Leaching of CCA: Is it a problem? Environmental considerations in the manufacture, use and disposal of pressure treated wood. Forest Products Society, Madison, Wis, USA.

- Lin, Q., Z. Wang, S. Ma, and Y. Chen. 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**:814-822.
- Loreau, M., and A. Hector. 2001. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* **412**:72-76.
- Meagher, R. B. 2000. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Current Opinion in Plant Biology* **3**:153-162.
- Michalet, R., R. W. Brooker, L. A. Cavieres, Z. Kikvidze, C. J. Lortie, F. I. Pugnaire, A. Valiente-Banuet, and R. M. Callaway. 2006. Do biotic interactions shape both sides of the humped-back model of species richness in plant communities? *Ecology Letters* **9**:767-773.
- Mills, T., B. Arnold, S. Sivakumaran, G. Northcott, I. Vogeler, B. Robinson, C. Norling, and D. Leonil. 2006. Phytoremediation and long-term site management of soil contaminated with pentachlorophenol (PCP) and heavy metals. *Environmental Management* **79**:232-241.
- Moukoui, J., R. E. Farrell, K. J. Van Rees, R. K. Hynes, and N. Bélanger. 2012. Intercropping *Caragana arborescens* with *Salix miyabeana* to satisfy nitrogen demand and maximize growth. *BioEnergy Research* **5**:719-732.
- Murtic, S., J. Jurkovic, E. Basic, and E. Hekic. 2019. Assessment of wild plants for phytoremediation of heavy metals in soils surrounding the thermal power station. *Agronomy Research* **17**:234-244.
- Nakamura, T., T. Motoyama, Y. Suzuki, and I. Yamaguchi. 2004. Biotransformation of pentachlorophenol by Chinese chive and a recombinant derivative of its rhizosphere-competent microorganism, *Pseudomonas gladioli* M-2196. *Soil Biology and Biochemistry* **36**:787-795.
- Ni, J., A. Leung, and C. Ng. 2018. Modelling soil suction changes due to mixed species planting. *Ecological Engineering* **117**:1-17.
- Panda, S., and S. Choudhury. 2005. Chromium stress in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **17**:95-102.
- Pilon-Smits, E. 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* **56**:15-39.
- Pitre, F., T. Teodorescu, and M. Labrecque. 2010. Brownfield phytoremediation of heavy Metals using Brassica and Salix supplemented with EDTA: results of the first growing season. *Environmental Science and Engineering* **4**:51-59.
- Poorter, H., and O. Nagel. 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Functional Plant Biology* **27**:1191-1191.
- Pulford, I., and C. Watson. 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environment International* **29**:529-540.

- Quaggiotti, S., G. Barcaccia, M. Schiavon, S. Nicolé, G. Galla, V. Rossignolo, M. Soattin, and M. Malagoli. 2007. Phytoremediation of chromium using *Salix* species: cloning ESTs and candidate genes involved in the Cr response. *Gene* **402**:68-80.
- R Development Core Team. 2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Robinson, B. H., T. M. Mills, D. Petit, L. E. Fung, S. R. Green, and B. E. Clothier. 2000. Natural and induced cadmium-accumulation in poplar and willow: Implications for phytoremediation. *Plant and Soil* **227**:301-306.
- Sharma, H. D., and K. R. Reddy. 2004. Geoenvironmental engineering: site remediation, waste containment, and emerging waste management technologies. John Wiley & Sons.
- Simons, R. A. 1998. Turning brownfields into greenbacks: Redeveloping and financing contaminated urban real estate. Urban Land Institute, Washington, DC.
- Smith, K. E., A. P. Schwab, and M. K. Banks. 2007. Phytoremediation of Polychlorinated Biphenyl (PCB)-Contaminated Sediment. *Environmental Quality* **36**:239-244.
- Smith, R. G., K. L. Gross, and G. P. Robertson. 2008. Effects of crop diversity on agroecosystem function: crop yield response. *Ecosystems* **11**:355-366.
- Spehn, E., A. Hector, J. Joshi, M. Scherer-Lorenzen, B. Schmid, E. Bazeley-White, C. Beierkuhnlein, M. Caldeira, M. Diemer, and P. Dimitrakopoulos. 2005. Ecosystem effects of biodiversity manipulations in European grasslands. *Ecological Monographs* **75**:37-63.
- Sudell, G., A. Selvakumar, and G. Wolf. 1992. Contaminants and remedial options at wood-preserving sites. Foster Wheeler Enviresponse, Inc., Edison, NJ (United States).
- Tilman, D., P. B. Reich, J. Knops, D. Wedin, T. Mielke, and C. Lehman. 2001. Diversity and Productivity in a Long-Term Grassland Experiment. *Science* **294**:843-845.
- Tlustoš, P., D. Pavlíková, J. Száková, Z. Fischeroá, and J. Balík. 2006. Exploitation of fast growing trees in metal remediation. Pages 83-102 *Phytoremediation Rhizoremediation*. Springer.
- Tlustoš, P., J. i. Száková, M. Vysloužilová, D. Pavlíková, J. Weger, and H. Javorská. 2007. Variation in the uptake of Arsenic, Cadmium, Lead, and Zinc by different species of willows *Salix* spp. grown in contaminated soils. *Central European Journal of Biology* **2**:254-275.
- Urrutia, C., O. Rubilar, C. Parede, E. Benítez, R. Azcón, and M. C. Diez. 2013. Removal of pentachlorophenol in a rhizotron system with ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Soil Science and Plant Nutrition* **13**:499-510.
- USEPA. 2004. Semi volatile target compound list and corresponding CRQLs (Contract Required Quantitation Limits).
- USGAO. 2010. EPA's estimated costs to remediate existing sites exceed current funding levels, and more sites are expected to be added to the national priorities list. GAO-10-380.
- Van der Perk, M. 2013. Soil and water contamination. CRC Press, Boca Raton.

- Van Noordwijk, M., G. Lawson, K. Hairiah, and J. Wilson. 2015. Root distribution of trees and crops: competition and/or complementarity. Pages 221-257 *Tree–Crop Interactions: Agroforestry in a Changing Climate*. CABI, Wallingford, UK, Wallinford, UK.
- Vyslouzilova, M., P. Tlustos, and J. Száková. 2003. Cadmium and zinc phytoextraction potential of seven clones of *Salix* spp. planted on heavy metal contaminated soils. *Plant Soil and Environment* **49**:542-547.
- Wang, J., Y. Ge, T. Chen, Y. Bai, B. Y. Qian, and C. B. Zhang. 2014. Facilitation drives the positive effects of plant richness on trace metal removal in a biodiversity experiment. *PLoS One* **9**:e93733.
- Wieshammer, G., R. Unterbrunner, T. B. García, M. F. Zivkovic, M. Puschenreiter, and W. W. Wenzel. 2007. Phytoextraction of Cd and Zn from agricultural soils by *Salix* ssp. and intercropping of *Salix caprea* and *Arabidopsis halleri*. *Plant and Soil* **298**:255-264.
- Xiong, P.-p., C.-q. He, O. Kokyo, X. Chen, X. Liang, X. Liu, X. Cheng, C.-l. Wu, and Z.-c. Shi. 2018. *Medicago sativa* L. enhances the phytoextraction of cadmium and zinc by *Ricinus communis* L. on contaminated land in situ. *Ecological Engineering* **116**:61-66.
- Yang, J., J. Yang, and J. Huang. 2017. Role of co-planting and chitosan in phytoextraction of As and heavy metals by *Pteris vittata* and castor bean – A field case. *Ecological Engineering* **109**:35-40.
- Zamora, D. S., K. G. Apostol, and G. J. Wyatt. 2014. Biomass production and potential ethanol yields of shrub willow hybrids and native willow accessions after a single 3-year harvest cycle on marginal lands in central Minnesota, USA. *Agroforestry Systems* **88**:593-606.
- Zeng, P., Z. Guo, X. Xiao, C. Peng, B. Huang, and W. Feng. 2019. Complementarity of co-planting a hyperaccumulator with three metal(loid)-tolerant species for metal(loid)-contaminated soil remediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **169**:306-315.
- Zhao, F.-J., Y. Ma, Y.-G. Zhu, Z. Tang, and S. P. McGrath. 2014. Soil contamination in China: current status and mitigation strategies. *Environmental Science & Technology* **49**:750-759.
- Zheng, W., X. Wang, H. Yu, X. Tao, Y. Zhou, and W. Qu. 2011. Global trends and diversity in pentachlorophenol levels in the environment and in humans: A meta-analysis. *Environmental Science & Technology* **45**:4668-4675.

Chapitre 3 | DISCUSSION GÉNÉRALE

Les phytotechnologies proposent des solutions durables pouvant répondre efficacement à des problématiques actuelles pour lesquelles les solutions conventionnelles n'offrent pas ou peu de bénéfices ajoutés pour l'environnement. L'utilisation d'une combinaison d'espèces pour la remédiation de sol à contamination mixte est une approche intéressante par les services écologiques fournis par la végétalisation et en raison de son potentiel d'implantation dans de nombreux sites contaminés laissés à eux-mêmes. Le manque d'études ciblées sur l'utilisation de polycultures en phytoremédiation avec des espèces adaptées au contexte nord-américain corrobore la nécessité d'étudier cette approche innovatrice.

L'objectif de l'étude était de déterminer la capacité de phytoremédiation d'une combinaison de plantes constituée d'une espèce arbustive et d'une plante herbacée. L'hypothèse générale est que la diversité des traits fonctionnels des espèces permet d'utiliser les aptitudes complémentaires de phytoremédiation propres à chaque espèce et d'ainsi obtenir une remédiation plus efficace des sols.

Retour sur les hypothèses des objectifs spécifiques

1. La contamination du sol amène une baisse de productivité de la biomasse des espèces.

Une baisse de la production de biomasse des espèces était attendue en raison de la présence d'As, de Cr, de Cu et de PCP dans le sol. Les composés du Cr sont très toxiques pour les plantes et l'As affecte négativement les enzymes des plantes (Nagajyoti et al. 2010). Les deux éléments traces affectent directement la croissance des espèces et peuvent même induire leur mort (Nagajyoti et al. 2010). L'As(V) dans le sol peut agir en diminuant l'apport d'énergie de la cellule (Scott-Fordsmand and Pedersen 1995) en inhibant la formation de l'ATP (Hughes 2002). L'autre forme d'As retrouvé dans le sol, l'As(III) affecte les protéines (Jiang and Singh 1994, Scott-Fordsmand and Pedersen 1995). Bien que le Cu constitue un élément essentiel pour la croissance des plantes, un excès de Cu peut mener à une toxicité accrue de l'élément pour la plante, retarder sa croissance et mener à une chlorose des feuilles (Lewis et al. 2001). Une étude

a montré que la présence de Cu dans le sol a limité la croissance de plantes telle qu'*Alyssum montanum* (Ouzounidou 1994). Une présence excessive de Cu dans l'environnement peut causer un stress oxydatif (Stadtman and Oliver 1991) qui dérègle les chemins métaboliques et affecte les macromolécules (Hegedüs et al. 2001). Enfin, le PCP est hautement toxique pour les végétaux (Repetto et al. 2001, Gravance et al. 2003, Freire et al. 2005, Yang et al. 2005).

Néanmoins, l'hypothèse ne peut être confirmée étant donné que la contamination n'a pas affecté la production de biomasse des espèces, sauf dans le cas du traitement *S. interior* + *F. arundinacea* où la production de biomasse des racines fut supérieure dans le sol contaminé (Figure 3.1). Le sol utilisé pour l'expérience a été sélectionné pour ses caractéristiques se rapprochant d'un sol de site industriel. Par conséquent, il est particulièrement pauvre d'un point de vue agronomique ce qui peut avoir limité la production de biomasse des espèces étudiées. Par ailleurs, le pH très légèrement alcalin de 7.53 du sol pourrait avoir limité la biodisponibilité des éléments traces pour les plantes et, par le fait même, leur effet toxique. Un environnement plus acide aurait permis une augmentation de la solubilisation de certains éléments comme le Cr et le Cu (Du et al. 1994). Par ailleurs, les concentrations modérées en éléments traces (concentrations d'As, de Cr et de Cu toutes inférieures au critère C du Gouvernement du Québec) et faibles en composés organiques (concentration de PCP sous le critère B) peuvent expliquer le peu de différence significative dans la majorité des traitements sur la production de biomasse des espèces entre le sol contaminé et non contaminé. Des travaux supplémentaires seront nécessaires pour déterminer sous quels seuils de concentrations de contaminants on peut observer un effet marqué sur la production de biomasse en sol à contamination mixte à l'ACC et au PCP. La différence dans les parties racinaires de *F. arundinacea* dans la co-plantation avec *S. interior* peut être le résultat d'interactions bénéfiques entre les deux espèces avant que *S. interior* ne meure pendant ce traitement. En effet, plusieurs études ont proposé que les interactions positives entre les espèces augmentent dans les communautés stressées (Bertness and Callaway 1994, Brooker and Callaghan 1998) ce qui a été également testé dans certaines expériences sur le terrain (Callaway et al. 2002, Gómez-Aparicio et al. 2004).

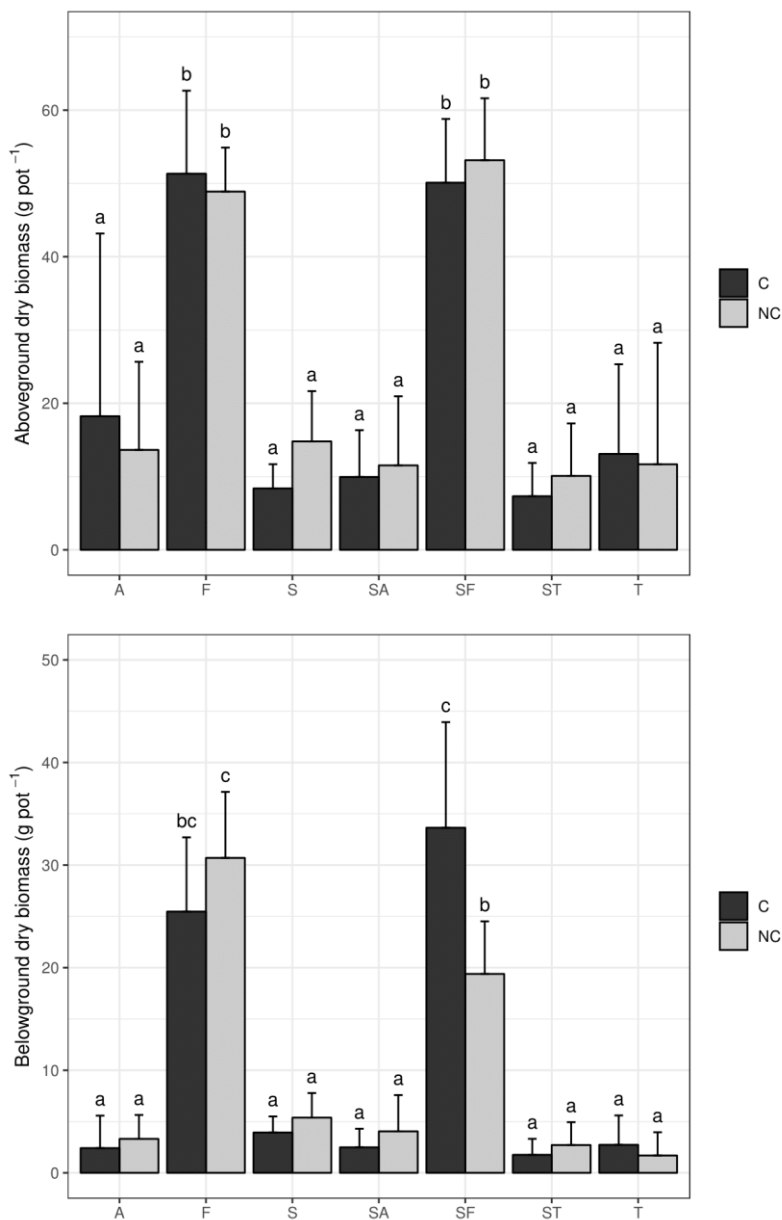


Figure 3.1 Mean (with standard deviation) dry biomass (g dry weight pot⁻¹) in aboveground and belowground tissues for co-planting treatments involving *S. interior* (S), *A. millefolium* (A), *T. pratense* (T) and *F. arundinacea* (F) after 120 days of growth in a contaminated (C) and non-contaminated soil (NC). Means with different letters indicate significant differences based on the Tukey's LSD ($p < 0.05$) test. Note that all *S. interior* died within the 84th day of the experiment in the co-planting treatment with the *F. arundinacea* (SF).

2.1. La combinaison de deux espèces permet une plus grande accumulation d'éléments traces dans les parties aériennes et racinaires des combinaisons d'espèces que dans les monocultures.

Productivité

Pour évaluer les espèces choisies en monocultures ou en combinaisons sur l'extraction des éléments traces et la contamination du sol, elles doivent avoir la capacité de s'établir et de croître en milieu contaminé sous les concentrations étudiées. Les espèces ont été sélectionnées pour leur potentiel de croissance dans des conditions difficiles et d'établissement sous des conditions de sol pauvre. Néanmoins, l'établissement d'*A. millefolium* et de *S. interior*, dans certains traitements, a été ardu dans cette expérience. L'ensemencement d'*A. millefolium* s'est fait selon la densité de semences recommandée par les fournisseurs et adaptée à la réalité des agriculteurs pour des sols riches en matière organique et en nutriments. Les conditions plus difficiles des sols de cette expérience peuvent, en partie, expliquer le taux de germination peu élevé des semences dans les pots. La concentration initiale de $26 \pm 3 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cr peut également avoir eu un effet négatif sur le taux de germination. Le Cr peut inhiber la germination ce qui peut servir d'indicateur sur la tolérance d'une espèce à cet élément trace (Peralta et al. 2001). Plusieurs études ont montré que le Cr diminuait le taux de germination (Parr and Taylor Jr 1982, Radha et al. 2000, Rout et al. 2000, Peralta et al. 2001), même à une concentration de 20 mg kg^{-1} Cr où une diminution de 32% de la germination de la canne à sucre (*Saccharum* sp. hybride cv. Colk 8102) avait été observée (Radha et al. 2000). Pour ce qui est du *S. interior*, l'utilisation de cette espèce indigène de saule non reconnue pour sa grande production de biomasse comparativement à celle attendue pour certains cultivars hybrides de saules qui sont sélectionnés pour leur forte productivité peut expliquer l'établissement plus faible de cette espèce. Par ailleurs, la combinaison *S. interior* et *F. arundinacea* a mené à la mort complète de tous les saules en date du 84e jour. L'implantation des semences de *F. arundinacea* quatre semaines avant la plantation de boutures de *S. interior* pourrait avoir causé cette mortalité. Le système racinaire extensif de la graminée avait potentiellement déjà colonisé le pot et la compétition entre les plantes pour les ressources et l'espace pourrait avoir poussé graduellement tous les saules à la mort dans le sol contaminé. L'étude de Desjardins et al. (2018) a montré que le fait d'introduire des boutures d'une autre espèce de saule, dans ce cas *Salix miyabeana*, et des

semences de *F. arundinacea* au même moment permettait l'établissement et le développement des deux espèces.

Une biomasse supérieure par espèce était attendue dans les systèmes co-plantés tel que rapporté par la littérature qui montre qu'une diversité d'espèces est directement corrélée à une augmentation de la productivité (Tilman et al. 1996, Hooper and Vitousek 1998, Hector et al. 1999, Schlapfer and Schmid 1999, Tilman et al. 2001, Lovelock and Ewel 2005, Smith et al. 2008). Cependant, l'expérience a montré que la co-plantation n'a majoritairement pas eu d'effet sur la production de biomasse des espèces, sauf dans le cas du traitement SF où il y a eu l'élimination totale du *S. interior*. Par conséquent, sous la prémisse que la combinaison d'espèces n'influence pas la production de biomasse par une espèce donnée, une biomasse totale de plantes supérieure est attendue dans les systèmes co-plantés étant donné que la somme des masses de deux espèces sera supérieure à la masse d'une seule espèce en monoculture.

Accumulation des éléments traces

Une accumulation supérieure des éléments traces est attendue dans les systèmes co-plantés en raison de la biomasse supérieure des combinaisons comparativement aux monocultures. Des aptitudes complémentaires de phytoremédiation propre à chaque espèce pourraient également être en cause. En effet, plusieurs études ont montré que l'utilisation d'une combinaison d'espèces (Wu et al. 2007, Lu and Zhang 2014, Wang et al. 2014, Desjardins et al. 2018, Zeng et al. 2019) menait à des quantités extraites en éléments traces plus élevées que leurs monocultures grâce à la facilitation entre les espèces ou la complémentarité de leurs aptitudes de remédiation. Dans notre étude, le mélange *S. interior* et *F. arundinacea* s'est démarqué comme étant le traitement le plus performant pour l'accumulation totale des trois éléments traces, malgré la mort du *S. interior*. L'effet du saule n'est pas clair, mais il pourrait avoir eu un rôle à jouer sur la biodisponibilité des éléments traces pour la graminée. En effet, l'exsudation de H⁺ par *S. interior* pouvait avoir favorisé l'extraction des éléments traces par *F. arundinacea*. L'exsudation de H⁺ permet d'augmenter la mobilité des éléments traces dans le sol et ainsi d'accroître leur biodisponibilité (An et al. 2011, Xiong et al. 2018). Il serait intéressant d'évaluer si *S. interior* aurait un effet aussi positif dans ce traitement s'il poursuivait sa croissance ou s'il s'établissait en même temps que *F. arundinacea*. D'autres études sont nécessaires pour déterminer si, sur le long terme, les racines plus profondes du saule auraient permis le partage

des ressources du sol entre les deux espèces et offert une capacité de phytoremédiation supérieure par des patrons d'allocation des ressources différents et leurs traits fonctionnels possiblement complémentaires. Les résultats obtenus soutiennent partiellement l'hypothèse que l'utilisation de combinaisons d'espèces offre une capacité de phytoremédiation supérieure aux espèces en monocultures, puisque ce ne sont pas tous les systèmes co-plantés qui ont accumulé des quantités supérieures d'As, de Cr et du Cu. Cependant, dans la majorité des cas, la présence des espèces herbacées n'a pas eu d'effet significatif sur l'extraction d'As, Cr et Cu dans les tissus de *S. interior*. Une augmentation de la masse totale des éléments traces est attendue dans les traitements co-plantés étant donné la hausse de la biomasse sur une même surface comparativement à leurs monocultures. Dans un tel contexte, des efforts ciblés sur la production de biomasse par notamment l'utilisation d'espèces productives devraient mener à une augmentation du potentiel de phytoremédiation des systèmes co-plantés.

2.2 La contamination du sol est moindre dans les pots contenant une combinaison de deux espèces.

Dissipation du PCP

Une baisse de la contamination était attendue dans les pots co-plantés par l'augmentation de la dissipation des composés organiques. La dissipation du PCP est directement liée à la hausse de biomasse attendue ainsi qu'à l'activité microbienne supérieure dans ce type de système comparativement aux monocultures (Sun et al. 2011). Étonnamment, aucune différence n'a même été relevée entre les pots non plantés et les pots plantés, contrairement à la hausse anticipée de la dissipation du composé organique dans le sol par l'augmentation de l'activité microbienne due à la présence de plantes (He et al. 2005, Mills et al. 2006). Par ailleurs, la dégradation du PCP par les enzymes des plantes, particulièrement les déhalogénases, aurait été attendue comme menant à des concentrations de PCP moindres dans les pots plantés (Lin et al. 2006), mais ceci n'a pas été observé dans le cadre de l'expérience. Les systèmes co-plantés avec *S. interior* et une plante herbacée étaient prometteurs pour la dissipation du PCP du sol étant donné que les saules sont reconnus comme de bons candidats pour la dissipation de ce composé dans le sol selon Mills et al. (2006). Les faibles valeurs des concentrations résiduelles de PCP, parfois sous la limite de détection de 0.10 mg kg^{-1} et la demi-vie de 45 jours du PCP pourraient

aussi expliquer pourquoi aucune différence n'a été relevée entre les différents traitements étant donné la persistance modérée du composé organique dans l'environnement (Beckers et al. 1994).

Concentrations en éléments traces dans le sol

Les concentrations en éléments traces à la fin de la période de croissance de 120 jours ont également été mesurées (Tableau 3.1), mais n'ont pas été présentées dans l'article. En effet, l'accumulation des éléments traces dans les tissus des plantes et les concentrations finales de PCP dans le sol ont été sélectionnées pour répondre à l'objectif de déterminer la capacité de phytoremédiation d'un système co-planté. Par exemple, l'étude de Lu and Zhang (2014) a également seulement présenté l'accumulation des éléments traces par les plantes comme indicateur qui permet de statuer sur leur potentiel de remédiation sans montrer les concentrations finales en éléments traces, mais seulement celles d'un composé organique, le BDE-209. Dans notre étude, l'exclusion des résultats des concentrations en éléments traces du sol à la fin de l'expérience est en partie justifiée par l'échantillonnage des sols insuffisant au début de l'expérience. En effet, sous la prémisses que les sols contaminés étaient homogènes à travers les pots et suivant des contraintes monétaires, seuls six pots ont été échantillonnés au début de l'expérience pour l'ensemble des 45 pots contaminés. Or, les résultats des concentrations des éléments traces ont montré une hétérogénéité des concentrations entre les pots non négligeable. La variabilité attendue entre les 45 pots et au sein même d'un pot a donc mené à l'exclusion de résultats obtenus pour la composition chimique en éléments traces dans le sol à la fin de l'expérience. Effectivement, la comparaison de l'effet des traitements peut difficilement être réalisée si la concentration initiale du sol dans un pot donné est connue ($n = 6$), mais trop variable pour faire une opération mathématique. Or, comparativement aux éléments traces, les concentrations de PCP résiduelles après les 120 jours de croissance ont été présentées dans l'article comme indicateur de la performance d'un traitement même s'ils correspondent au même plan d'échantillonnage. Ce choix est justifié par le fait qu'une dissipation plus marquée du PCP était attendue contrairement à de faibles différences dans la contamination en éléments traces du sol en vertu de la demi-vie de 45 jours du contaminant organique (Beckers et al. 1994). En bref, aucune différence statistique n'a été relevée entre les traitements et entre les moyennes des concentrations initiales (C_i) et finales (C_f) d'As, de Cr et du Cu.

Table 3.1 Mean (with standard deviation) trace element concentrations (mg kg⁻¹) in the soil at the beginning (C_i, n=6) and after 120 days of growth (C_f) in a contaminated soil for co-planting treatments involving *S. interior* (S), *A. millefolium* (A), *T. pratense* (T) and *F. arundinacea* (F). No significant difference was found between the treatments for each trace element, based on Tukey's LSD ($p < 0.05$) test. Note that all *S. interior* died within the 84th day of the experiment in the co-planting treatment with the *F. arundinacea* (SF).

	Treatment	As	Cr	Cu
C _i (d=0)	All	37±7	26±3	28±6
	C	37±7	25±6	30±5
	S	39±14	25±8	37±7
	A	35	19	26
C _f (d=120)	T	37±11	20±4	28±9
	F	41±9	25±5	29±6
	SA	31±4	23±7	27±1
	ST	35±9	24±7	27±2
	SF	34±4	24±3	26±5

3. *T. pratense* est attendue comme performant le mieux avec *S. interior*

La troisième hypothèse spécifique concerne la légumineuse *T. pratense* qui est l'espèce qui devrait le plus augmenter la performance du saule en raison d'un nouvel apport d'azote dans le système comparativement au saule en monoculture. Néanmoins, aucun effet bénéfique de la légumineuse n'a été constaté sur la production de biomasse et la capacité de phytoremédiation du *S. interior*. *S. interior* n'a pas bénéficié de la présence de l'espèce fixatrice d'azote tel qu'attendu dans un sol à basse fertilité (Moukoumi et al. 2012). La faible production de biomasse de *T. pratense* lors de la saison de croissance pourrait expliquer l'absence d'effet de la co-plantation de *T. pratense* sur la production de biomasse, l'extraction en éléments traces du *S. interior* et la dissipation du PCP du traitement ST. La fixation d'azote par la légumineuse a aussi pu être affectée par la contamination du sol (Castro and Ferreira 2006) et pourrait expliquer l'absence d'effet. Malheureusement, comme la fixation de l'azote n'a pas été estimée pendant l'expérience, on ne peut statuer sur l'effet de la contamination sur celle-ci. Par ailleurs, *A. millefolium* n'a pas non plus influencé la performance de phytoremédiation du saule, évaluée par les quantités extraites d'éléments traces dans ses tissus et l'effet sur la dissipation du PCP dans le sol, dans cette étude.

Enfin, la graminée *F. arundinacea* a semblé bénéficier de la présence du saule dans le système co-planté, mais la mort de tous les saules dans ce traitement témoigne de l'inverse pour

l'arbuste. La complémentarité de l'espace racinaire entre un arbre et une graminée a été supposée dans une autre étude (Van Noordwijk et al. 2015), mais n'a pas pu être montrée lors de notre expérience. Le système racinaire fibreux et dense de *F. arundinacea* (Garwood and Sinclair 1979) semble avoir compétitionné pour l'espace et les ressources dans le traitement SF.

En bref, il est difficile d'infirmer ou de confirmer l'hypothèse, puisque *T. pratense* et *A. millefolium* n'ont toutes deux eu aucun effet sur les capacités de phytoremédiation du saule.

Implications futures

Cette étude a permis de mettre en lumière le potentiel de la combinaison d'espèces pour la phytoremédiation d'un sol à contamination mixte. Néanmoins, certaines limites de l'expérience ont pu être relevées. Le temps de culture des espèces sur une période de 120 jours a principalement limité la production de biomasse des plantes et n'est pas exactement représentatif de la mise en place d'une réelle remédiation d'un site avec la phytoremédiation. Par ailleurs, un ensemencement adéquat et suffisant est nécessaire pour obtenir des biomasses suffisantes de végétaux. Ainsi, les effets mesurés seront bien ceux de la combinaison d'espèces. Un établissement et une production de biomasse suffisante dans tous les pots permettront d'augmenter la taille d'échantillons et d'accroître les chances d'obtenir des différences statistiquement soutenues entre les traitements. Par ailleurs, le traitement *S. interior* et *F. arundinacea* s'est démarqué comme le meilleur traitement pour l'accumulation des éléments traces dans les tissus de la fétuque, malgré la mort totale du saule dans ce système dû à la construction de l'expérience et non à une incompatibilité entre les deux espèces. Dans le cadre d'expériences futures, cette combinaison pourrait être réessayée en plantant le *S. interior* avant la graminée *F. arundinacea* pour permettre l'établissement du saule et éviter sa mortalité. L'utilisation d'une autre espèce de saule pourrait aussi être envisagée.

Malgré les limites énoncées, les résultats obtenus montrent que l'utilisation de la co-plantation en phytoremédiation de sol à contamination mixte est une avenue à explorer. L'absence d'impact ou les effets positifs de la co-plantation montrent l'intérêt d'utiliser un genre déjà reconnu pour sa capacité de remédiation, *Salix*, avec une plante aux traits fonctionnels différents. En effet, une hausse de biomasse totale est anticipée sur une même surface de sol dans les traitements co-plantés ce qui pourrait mener à une augmentation du potentiel de

phytoremédiation. Par ailleurs, la contamination artificielle du sol amène certaines limitations sur la transposition de l'expérience en conditions réelles de site contaminé, car le comportement, la phytotoxicité, et la biodisponibilité des contaminants peuvent différer (Zhang et al. 2016). De futures expériences conduites sur une longue période de temps sur un terrain contaminé depuis des années sans limitation d'espaces pour les racines, contrairement à une expérience en pots, sont nécessaires. En effet, une plus longue période de temps permettrait aux diverses espèces de bien s'établir sur le sol contaminé. Une croissance racinaire supérieure et une baisse de la compétition interspécifique pour les ressources pourraient être attendues dans une expérience sur le terrain. Néanmoins, les expériences en terrain déjà contaminé compliquent la détermination des effets des traitements sur les concentrations en éléments traces et en composés organiques du sol compte tenu de l'hétérogénéité des concentrations de contaminants sur le terrain. En outre, il devient ardu d'étudier l'effet de la contamination sur la production de biomasse des espèces, car on ne peut avoir exactement le même sol possédant les mêmes propriétés, mais non contaminé comme il est possible avec la contamination artificielle.

L'innovation en phytoremédiation est nécessaire pour faire avancer la technologie et offrir des solutions adaptées aux conditions réelles de la contamination du sol. Les résultats rapportés dans cette étude ont permis de mettre en lumière l'intérêt de l'utilisation d'une combinaison d'espèces pour un sol à contamination mixte. La polyculture du *S. interior* et *F. arundinacea* a occasionné une augmentation de la quantité totale de Cr et Cu extraite dans les racines de *F. arundinacea*. Ces résultats montrent la potentielle efficacité accrue des polycultures pour la phytoextraction du Cr et du Cu. Toutes les espèces en polycultures ont obtenu des concentrations d'éléments traces supérieures ou égales en comparaison avec leurs monocultures respectives. Les effets positifs d'une diversité de plantes résident dans les différents patrons d'acquisition et d'utilisation des ressources, la complémentarité ou la facilitation (Loreau and Hector 2001). Cependant, les effets qu'a eu *S. interior* sur *F. arundinacea* restent incompris. Par ailleurs, la co-plantation n'a pas eu d'effets sur la production de biomasse des espèces, sauf dans le cas du *S. interior* avec *F. arundinacea*. Ainsi, une biomasse totale supérieure est attendue dans les systèmes co-plantés comparativement aux monocultures. La remédiation d'un sol à contamination mixte est complexe et la spécificité d'habiletés de phytoremédiation de chaque espèce montre l'intérêt à utiliser une combinaison d'espèces. Des recherches supplémentaires devront être conduites sur les interactions

interspécifiques entre les plantes dans un contexte de phytoremédiation. Une compréhension bonifiée de ces interactions permettrait une meilleure exploitation des mécanismes positifs, tel que la complémentarité. Comme les espèces peuvent aussi être amenées à compétitionner pour des ressources, mieux comprendre les interactions interspécifiques permettrait de limiter les interactions négatives qui peuvent nuire à la décontamination du sol.

En bref, la contamination mixte du sol et la spécificité des terrains contaminés dans le nord de l'Amérique par leurs conditions climatiques offrent de nouvelles avenues à explorer en phytoremédiation. Une nouvelle approche se traduit par l'opportunité d'utiliser la complémentarité fonctionnelle par l'utilisation d'espèces indigènes et naturalisées à l'Amérique du Nord, notamment au Québec, et poussant dans des sols industriels pauvres. À la suite de la remédiation d'un site, le terrain propre pourra ainsi être revalorisé et utilisé pour des générations à venir. L'utilisation concrète et répandue de la phytoremédiation est à nos portes et la recherche doit se poursuivre notamment vis-à-vis des relations complexes qu'entretiennent les plantes entre elles, les contaminants et le sol.

Bibliographie

- Ali, H., E. Khan, and M. A. Sajad. 2013. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere* **91**:869-881.
- An, L., Y. Pan, Z. Wang, and C. Zhu. 2011. Heavy metal absorption status of five plant species in monoculture and intercropping. *Plant and Soil* **345**:237-245.
- Andreu, V., and Y. Picó. 2004. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *Trends in Analytical Chemistry* **23**:772-789.
- Antosiewicz, D., C. Escudé-Duran, E. Wierzbowska, and A. Skłodowska. 2008. Indigenous plant species with the potential for the phytoremediation of arsenic and metals contaminated soil. *Water, Air, and Soil Pollution* **193**:197-210.
- ASTDR. 2007. Public Health Statement: Arsenic. CAS#: 7440-38-2. .
- Baker, A., R. Reeves, and S. McGrath. 1991. In situ decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal-accumulating plants—a feasibility study. Pages 600-605 In *in situ bioreclamation*. Elsevier.
- Balasoïu, C. F., G. J. Zagury, and L. Deschenes. 2001. Partitioning and speciation of chromium, copper, and arsenic in CCA-contaminated soils: influence of soil composition. *Science of the Total Environment* **280**:239-255.
- Balvanera, P., A. B. Pfisterer, N. Buchmann, J. S. He, T. Nakashizuka, D. Raffaelli, and B. Schmid. 2006. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology Letters* **9**:1146-1156.
- Beckers, P., A. Hornsby, and R. Wauchope. 1994. SCS/ARS/CES Pesticide properties database for environmental decision-making II. Additional Properties Reviews of Environmental Contamination and Toxicology **137**:1-82.
- Bedmar, M. L., A. Pérez-Sanz, M. Martínez-Iñigo, and A. P. Benito. 2009. Influence of coupled electrokinetic-phytoremediation on soil remediation. *Electrochemical Remediation Technologies for Polluted Soils, Sediments and Groundwater*. Wiley Hoboken, NJ, USA.
- Bertness, M. D., and R. Callaway. 1994. Positive interactions in communities. *Trends in Ecology & Evolution* **9**:191-193.
- Bessler, H., Y. Oelmann, C. Roscher, N. Buchmann, M. Scherer-Lorenzen, E.-D. Schulze, V. M. Temperton, W. Wilcke, and C. Engels. 2012. Nitrogen uptake by grassland communities: contribution of N₂ fixation, facilitation, complementarity, and species dominance. *Plant and Soil* **358**:301-322.
- Bhumbla, D., and R. Keefer. 1994. Arsenic in the environment. Nriagu, JO, Ed.
- Bissen, M., and F. H. Frimmel. 2003. Arsenic—a review. Part I: occurrence, toxicity, speciation, mobility. *Acta hydrochimica et hydrobiologica* **31**:9-18.

- Blüthgen, N., and A.-M. Klein. 2011. Functional complementarity and specialisation: The role of biodiversity in plant–pollinator interactions. *Basic and Applied Ecology* **12**:282-291.
- Brooker, R. W., and T. V. Callaghan. 1998. The balance between positive and negative plant interactions and its relationship to environmental gradients: a model. *Oikos* **81**:196-207.
- Brooker, R. W., A. J. Karley, A. C. Newton, R. J. Pakeman, and C. Schöb. 2016. Facilitation and sustainable agriculture: a mechanistic approach to reconciling crop production and conservation. *Functional Ecology* **30**:98-107.
- Caldeira, M. C., R. J. Ryel, J. H. Lawton, and J. S. Pereira. 2001. Mechanisms of positive biodiversity–production relationships: insights provided by $\delta^{13}\text{C}$ analysis in experimental Mediterranean grassland plots. *Ecology Letters* **4**:439-443.
- Callaway, R., R. Brooker, P. Choler, Z. Kikvidze, C. J. Lortie, R. Michalet, L. Paolini, F. Pugnaire, B. Cook, and E. Aschehoug. 2002. Interdependence among alpine plants increases with stress: a global experiment. *Nature* **417**:844-848.
- Callaway, R. M. 1995. Positive interactions among plants. *The Botanical Review* **61**:306-349.
- Callaway, R. M., and L. R. Walker. 1997. Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology* **78**:1958-1965.
- Cameselle, C., R. A. Chirakkara, and K. R. Reddy. 2013. Electrokinetic-enhanced phytoremediation of soils: status and opportunities. *Chemosphere* **93**:626-636.
- Cardinale, B. J., M. A. Palmer, and S. L. Collins. 2002. Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation. *Nature* **415**:426-429.
- Cardinale, B. J., D. S. Srivastava, J. Emmett Duffy, J. P. Wright, A. L. Downing, M. Sankaran, and C. Jouseau. 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature* **443**:989-992.
- Castiglione, S., C. Franchin, T. Fossati, G. Lingua, P. Torrigiani, and S. Biondi. 2007. High zinc concentrations reduce rooting capacity and alter metallothionein gene expression in white poplar (*Populus alba* L. cv. Villafranca). *Chemosphere* **67**:1117-1126.
- Castro, I., and E. Ferreira. 2006. Contaminación y fertilización: metales pesados y lodos de depuradoras. Pages 291-303 *in* Fijación de nitrógeno: Fundamentos y aplicaciones. Sociedad Española de Fijación de Nitrógeno.
- Chatterjee, C., R. Gopal, and B. Dube. 2006. Physiological and biochemical responses of French bean to excess cobalt. *Plant Nutrition* **29**:127-136.
- Chirakkara, R. 2014. Phytoremediation of Soils with Mixed Contamination. *in* K. R. Reddy and K. Reddy, editors. ProQuest Dissertations Publishing.
- Christodoulatos, C., G. P. Korfiatis, N. M. Talimcioglu, and M. Mohiuddin. 1994. Adsorption of pentachlorophenol by natural soils. *Environmental Science & Health* **29**:883-898.
- Christodoulatos, C., and M. Mohiuddin. 1996. Generalized models for prediction of pentachlorophenol adsorption by natural soils. *Water Environment Research* **68**:370-378.

- Cooper, P. 1994. Leaching of CCA: Is it a problem? Environmental considerations in the manufacture, use and disposal of pressure treated wood. Forest Products Society, Madison, Wis, USA.
- Craine, J. M., and R. Dybzinski. 2013. Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. *Functional Ecology* **27**:833-840.
- Cunningham, S. D., W. R. Berti, and J. W. Huang. 1995. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology* **13**:393-397.
- De Sousa, C. 2001. Contaminated sites: The Canadian situation in an international context. *Environmental Management* **62**:131-154.
- Delas, J. 1984. Les toxicités métalliques dans les sols acides. *Le progrès agricole et viticole* **101**:96-102.
- Desjardins, D., N. J. B. Brereton, L. Marchand, J. Brisson, F. E. Pitre, and M. Labrecque. 2018. Complementarity of three distinctive phytoremediation crops for multiple-trace element contaminated soil. *Science of the Total Environment* **610-611**:1428-1438.
- Drenovsky, R. E., and J. J. James. 2010. Designing invasion-resistant plant communities: the role of plant functional traits. *Rangelands* **32**:32-37.
- Drinkwater, L. E., P. Wagoner, and M. Sarrantonio. 1998. Legume-based cropping systems have reduced carbon and nitrogen losses. *Nature* **396**:262.
- Du, Y. G., T. R. Sreekrishnan, R. D. Tyagi, and P. G. C. Campbell. 1994. Effect of pH on metal solubilization from sewage sludge: a neural-net-based approach. *Canadian Journal of Civil Engineering* **21**:728-735.
- Dubé, J.-S., R. Galvez-Cloutier, and T. Winiarski. 2002. Heavy metal transport in soil contaminated by residual light non-aqueous phase liquids (LNAPLs). *Canadian Geotechnical Journal* **39**:279-292.
- EPA. 2003. U.S. EPA Workshop on Managing Arsenic Risks to the Environment: Characterization of Waste, Chemistry, and Treatment and Disposal. . Page 107.
- Freire, P. F., V. Labrador, J. P. Martín, and M. Hazen. 2005. Cytotoxic effects in mammalian Vero cells exposed to pentachlorophenol. *Toxicology* **210**:37-44.
- Galvez-Cloutier, R., and J.-S. Dubé. 2002. Impact of residual NAPL on water flow and heavy metal transfer in a multimodal grain size soil under saturation conditions: Implications for contaminant mobility. *Evaluation and Remediation of Low Permeability and Dual Porosity Environments*. ASTM International.
- Garwood, E., and J. Sinclair. 1979. Use of water by six grass species. 2. Root distribution and use of soil water. *Agricultural Science* **93**:25-35.
- Gibson, D., and J. Newman. 2001. *Festuca arundinacea* Schreber (*F. elatior* L. ssp. *arundinacea* (Schreber) Hackel). *Journal of Ecology* **89**:304-324.
- Gómez-Aparicio, L., R. Zamora, J. M. Gómez, J. A. Hódar, J. Castro, and E. Baraza. 2004. Applying plant facilitation to forest restoration: a meta-analysis of the use of shrubs as nurse plants. *Ecological Applications* **14**:1128-1138.

- Gouvernement du Canada. 2018. Comparer des technologies de décontamination. *in* G. d. Canada, editor.
- Gouvernement du Québec. 2018. Loi sur la qualité de l'environnement. L.R.Q. c - Q-2.
- Gravance, C. G., D. L. Garner, M. G. Miller, and T. Berger. 2003. Flow cytometric assessment of changes in rat sperm mitochondrial function after treatment with pentachlorophenol. *Toxicology in Vitro* **17**:253-257.
- Gupta, S., and C. Aten. 1993. Comparison and evaluation of extraction media and their suitability in a simple model to predict the biological relevance of heavy metal concentrations in contaminated soils. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **51**:25-46.
- Hacker, S. D., and S. D. Gaines. 1997. Some implications of direct positive interactions for community species diversity. *Ecology* **78**:1990-2003.
- He, Y., J. Xu, C. Tang, and Y. Wu. 2005. Facilitation of pentachlorophenol degradation in the rhizosphere of ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Soil Biology and Biochemistry* **37**:2017-2024.
- Hechmi, N., N. B. Aissa, H. Abdenaceur, and N. Jedidi. 2014. Phytoremediation efficiency of a pcp-contaminated soil using four plant species as mono- and mixed cultures. *International Journal of Phytoremediation* **16**:1241-1256.
- Hector, A., B. Schmid, C. Beierkuhnlein, M. C. Caldeira, M. Diemer, P. G. Dimitrakopoulos, J. A. Finn, H. Freitas, P. S. Giller, J. Good, R. Harris, xf, P. gberg, K. Huss-Danell, J. Joshi, A. Jumpponen, xf, C. rner, P. W. Leadley, M. Loreau, A. Minns, C. P. H. Mulder, G. O'Donovan, S. J. Otway, J. S. Pereira, A. Prinz, D. J. Read, M. Scherer-Lorenzen, E. D. Schulze, A. S. D. Siamantziouras, E. M. Spehn, A. C. Terry, A. Y. Troumbis, F. I. Woodward, S. Yachi, and J. H. Lawton. 1999. Plant diversity and productivity experiments in european grasslands. *Science* **286**:1123-1127.
- Hegedüs, A., S. Erdei, and G. Horváth. 2001. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant Science* **160**:1085-1093.
- Hingston, J., C. Collins, R. Murphy, and J. Lester. 2001. Leaching of chromated copper arsenate wood preservatives: a review. *Environmental Pollution* **111**:53-66.
- Hooper, D. U., and P. M. Vitousek. 1998. Effects of Plant Composition and Diversity on Nutrient Cycling. *Ecological Monographs* **68**:121-149.
- Hughes, M. F. 2002. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicology Letters* **133**:1-16.
- Huston, M. A. 1997. Hidden treatments in ecological experiments: re-evaluating the ecosystem function of biodiversity. *Oecologia* **110**:449-460.
- Jerzy, D., and B. Jean-Marc. 1994. Use of plant material for the decontamination of water polluted with phenols. *Biotechnology and Bioengineering* **44**:1132-1139.

- Jiang, C.-a., Q.-T. Wu, T. Sterckeman, C. Schwartz, C. Sirguy, S. Ouyard, J. Perriguy, and J.-L. Morel. 2010. Co-planting can phytoextract similar amounts of cadmium and zinc to mono-cropping from contaminated soils. *Ecological Engineering* **36**:391-395.
- Jiang, Q. Q., and B. R. Singh. 1994. Effect of different forms and sources of arsenic on crop yield and arsenic concentration. *Water, Air, and Soil Pollution* **74**:321-343.
- Kotaś, J., and Z. Stasicka. 2000. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environmental Pollution* **107**:263-283.
- Lambers, J. H. R., W. S. Harpole, D. Tilman, J. Knops, and P. B. Reich. 2004. Mechanisms responsible for the positive diversity–productivity relationship in Minnesota grasslands. *Ecology Letters* **7**:661-668.
- Lee, I., K. Baek, H. Kim, S. Kim, J. Kim, Y. Kwon, Y. Chang, and B. Bae. 2007. Phytoremediation of soil co-contaminated with heavy metals and TNT using four plant species. *Environmental Science and Health* **42**:2039-2045.
- Lewis, S., M. Donkin, and M. Depledge. 2001. Hsp70 expression in *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) exposed to environmental stressors. *Aquatic Toxicology* **51**:277-291.
- Li, Y., F. Liang, Y. Zhu, and F. Wang. 2013. Phytoremediation of a PCB-contaminated soil by alfalfa and tall fescue single and mixed plants cultivation. *Soils and Sediments* **13**:925-931.
- Liancourt, P., R. M. Callaway, and R. Michalet. 2005. Stress tolerance and competitive-response ability determine the outcome of biotic interactions. *Ecology* **86**:1611-1618.
- Lin, Q., Z. Wang, S. Ma, and Y. Chen. 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**:814-822.
- Liu, L., W. Li, W. Song, and M. Guo. 2018. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. *Science of the Total Environment* **633**:206-219.
- Liu, Y., G. Zeng, H. Zhong, Z. Wang, Z. Liu, M. Cheng, G. Liu, X. Yang, and S. Liu. 2017. Effect of rhamnolipid solubilization on hexadecane bioavailability: enhancement or reduction? *Hazardous Materials* **322**:394-401.
- Loreau, M., and A. Hector. 2001. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* **412**:72-76.
- Lortie, C. J., and R. M. Callaway. 2006. Re-analysis of meta-analysis: support for the stress-gradient hypothesis. *Ecology* **94**:7-16.
- Lovelock, C. E., and J. J. Ewel. 2005. Links between tree species, symbiotic fungal diversity and ecosystem functioning in simplified tropical ecosystems. *New Phytologist* **167**:219-228.
- Lu, M., and Z.-Z. Zhang. 2014. Phytoremediation of soil co-contaminated with heavy metals and deca-BDE by co-planting of *Sedum alfredii* with tall fescue associated with *Bacillus cereus* JP12. *Plant and Soil* **382**:89-102.

- Mäder, P., A. Fliessbach, D. Dubois, L. Gunst, P. Fried, and U. Niggli. 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* **296**:1694-1697.
- Mahmood, T., and K. Islam. 2006. Response of rice seedlings to copper toxicity and acidity. *Plant Nutrition* **29**:943-957.
- Mamy, L., E. Barriuso, and B. Gabrielle. 2005. Environmental fate of herbicides trifluralin, metazachlor, metamitron and sulcotrione compared with that of glyphosate, a substitute broad spectrum herbicide for different glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science* **61**:905-916.
- Marquard, E., A. Weigelt, C. Roscher, M. Gubsch, A. Lipowsky, and B. Schmid. 2009. Positive biodiversity–productivity relationship due to increased plant density. *Ecology* **97**:696-704.
- Maslin, P., and R. M. Maier. 2000. Rhamnolipid-enhanced mineralization of phenanthrene in organic-metal co-contaminated soils. *Bioremediation* **4**:295-308.
- McBride, M. 2003. Toxic metals in sewage sludge-amended soils: has promotion of beneficial use discounted the risks? *Advances in Environmental Research* **8**:5-19.
- McLean, J. E., B. E. Bledsoe, and E. E. A. Sourcebook. 1996. Behavior of metals in soils. EPA Environmental Assessment Sourcebook **19**.
- Mehmood, F., A. Rashid, T. Mahmood, and L. Dawson. 2013. Effect of DTPA on Cd solubility in soil–Accumulation and subsequent toxicity to lettuce. *Chemosphere* **90**:1805-1810.
- Memon, A. R., D. Aktoprakligil, A. Özdemir, and A. Vertii. 2001. Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. *Turkish Journal of Botany* **25**:111-121.
- Memon, A. R., and P. Schröder. 2009. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research* **16**:162-175.
- Meng, L., M. Qiao, and H. P. H. Arp. 2011. Phytoremediation efficiency of a PAH-contaminated industrial soil using ryegrass, white clover, and celery as mono-and mixed cultures. *Soils and Sediments* **11**:482-490.
- Mills, T., B. Arnold, S. Sivakumaran, G. Northcott, I. Vogeler, B. Robinson, C. Norling, and D. Leonil. 2006. Phytoremediation and long-term site management of soil contaminated with pentachlorophenol (PCP) and heavy metals. *Environmental Management* **79**:232-241.
- Ministère du Développement durable, E. e. L. c. l. c. c. 2015. Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés. Gouvernement du Québec.
- Moreno-Jiménez, E., E. Esteban, and J. M. Peñalosa. 2012. The fate of arsenic in soil-plant systems. Pages 1-37 *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer.
- Moukoui, J., R. E. Farrell, K. J. Van Rees, R. K. Hynes, and N. Bélanger. 2012. Intercropping *Caragana arborescens* with *Salix miyabeana* to satisfy nitrogen demand and maximize growth. *BioEnergy Research* **5**:719-732.

- Nagajyoti, P. C., K. D. Lee, and T. V. M. Sreekanth. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters* **8**:199-216.
- NCBI. 2015. PubChem Compound Database; CID=86341922. .
- Ouzounidou, G. 1994. Changes in variable chlorophyll fluorescence as a result of Cu treatment: Dose-response relations in *Silene* and *Thlaspi*. *Photosynthetica (Czech Republic)*.
- Parr, P. D., and F. G. Taylor Jr. 1982. Germination and growth effects of hexavalent chromium in Orocol TL (a corrosion inhibitor) on *Phaseolus vulgaris*. *Environment International* **7**:197-202.
- Peralta, J., J. Gardea-Torresdey, K. Tiemann, E. Gomez, S. Arteaga, E. Rascon, and J. Parsons. 2001. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **66**:727-734.
- Pilon-Smits, E. 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* **56**:15-39.
- Pitter, P., and J. Chudoba. 1990. Biodegradability of organic substance in the aquatic environment. CPR Press, Boston.
- Radha, J., S. Srivastava, and V. Madan. 2000. Influence of chromium on growth and cell division of sugarcane. *Indian Journal of Plant Physiology* **5**:228-231.
- Rampazzo, G. T. 2009. Behavior of Organic Pollutants in the Soil Environment. Special Focus on Glyphosate and AMPA. *EQA-International Journal of Environmental Quality* **2**:59-72.
- Raskin, I., P. B. A. N. Kumar, S. Dushenkov, and D. E. Salt. 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology* **5**:285-290.
- Reddy, K. R. 2011. Special issue on contaminant mixtures: fate, transport, and remediation. American Society of Civil Engineers.
- Repetto, G., A. Jos, M. Hazen, M. Molero, A. Del Peso, M. Salguero, P. Del Castillo, M. Rodriguez-Vicente, and M. Repetto. 2001. A test battery for the ecotoxicological evaluation of pentachlorophenol. *Toxicology in Vitro* **15**:503-509.
- Rout, G. R., S. Samantaray, and P. Das. 2000. Effects of chromium and nickel on germination and growth in tolerant and non-tolerant populations of *Echinochloa colona* (L.) Link. *Chemosphere* **40**:855-859.
- Sadiq, M. 1997. Arsenic chemistry in soils: an overview of thermodynamic predictions and field observations. *Water, Air, and Soil Pollution* **93**:117-136.
- Said, W., and D. Lewis. 1991. Quantitative assessment of the effects of metals on microbial degradation of organic chemicals. *Applied and Environmental Microbiology* **57**:1498-1503.
- Salt, D. E., M. Blaylock, N. P. B. A. Kumar, V. Dushenkov, B. D. Ensley, I. Chet, and I. Raskin. 1995. Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology* **13**:468-474.

- Salt, D. E., R. D. Smith, and I. Raskin. 1998. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **49**:643-668.
- Sandrin, T. R., A. M. Chech, and R. M. Maier. 2000. A rhamnolipid biosurfactant reduces cadmium toxicity during naphthalene biodegradation. *Applied and Environmental Microbiology* **66**:4585-4588.
- Sandrin, T. R., and R. M. Maier. 2003. Impact of metals on the biodegradation of organic pollutants. *Environmental Health Perspectives* **111**:1093-1101.
- Sarma, H. 2011. Metal hyperaccumulation in plants: a review focusing on phytoremediation technology. *Environmental Science and Technology* **4**:118-138.
- Sauvé, S., M. B. McBride, W. A. Norvell, and W. H. Hendershot. 1997. Copper solubility and speciation of in situ contaminated soils: effects of copper level, pH and organic matter. *Water, Air, and Soil Pollution* **100**:133-149.
- Schlapfer, F., and B. Schmid. 1999. Ecosystem Effects of Biodiversity: A Classification of Hypotheses and Exploration of Empirical Results. *Ecological Applications* **9**:893-912.
- Schnitzer, S. A., J. N. Klironomos, J. HilleRisLambers, L. L. Kinkel, P. B. Reich, K. Xiao, M. C. Rillig, B. A. Sikes, R. M. Callaway, and S. A. Mangan. 2011. Soil microbes drive the classic plant diversity-productivity pattern. *Ecology* **92**:296-303.
- Schwarzbauer, J. 2006. *Organic contaminants in riverine and groundwater systems*. Springer.
- Scott-Fordsmand, J., and M. B. Pedersen. 1995. *Soil quality criteria for selected inorganic compounds*. Danish Environmental Protection Agency.
- Sebastiani, L., F. Scebba, and R. Tognetti. 2004. Heavy metal accumulation and growth responses in poplar clones Eridano (*Populus deltoides* × *maximowiczii*) and I-214 (*P. × euramericana*) exposed to industrial waste. *Environmental and Experimental Botany* **52**:79-88.
- Sharma, H. D., and K. R. Reddy. 2004. *Geoenvironmental engineering: site remediation, waste containment, and emerging waste management technologies*. John Wiley & Sons.
- Simons, R. A. 1998. *Turning brownfields into greenbacks: Redeveloping and financing contaminated urban real estate*. Urban Land Institute, Washington, DC.
- Smith, A. H., C. Hopenhayn-Rich, M. N. Bates, H. M. Goeden, I. Hertz-Picciotto, H. M. Duggan, R. Wood, M. J. Kosnett, and M. T. Smith. 1992. Cancer risks from arsenic in drinking water. *Environmental Health Perspectives* **97**:259-267.
- Smith, R. G., K. L. Gross, and G. P. Robertson. 2008. Effects of crop diversity on agroecosystem function: crop yield response. *Ecosystems* **11**:355-366.
- Song, B., G. Zeng, J. Gong, P. Zhang, J. Deng, C. Deng, J. Yan, P. Xu, C. Lai, and C. Zhang. 2017. Effect of multi-walled carbon nanotubes on phytotoxicity of sediments contaminated by phenanthrene and cadmium. *Chemosphere* **172**:449-458.
- Stadtman, E. R., and C. N. Oliver. 1991. Metal-catalyzed oxidation of proteins. Physiological consequences. *Biological Chemistry* **266**:2005-2008.

- Stilwell, D., and K. Gorny. 1997. Contamination of soil with copper, chromium, and arsenic under decks built from pressure treated wood. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **58**:22-29.
- Storkey, J., T. Doring, J. Baddeley, R. Collins, S. Roderick, R. Stobart, H. Jones, and C. Watson. 2015. A framework for designing multi-functional cover crops. *Aspects of Applied Biology* **129**:7-12.
- Sun, M., D. Fu, Y. Teng, Y. Shen, Y. Luo, Z. Li, and P. Christie. 2011. In situ phytoremediation of PAH-contaminated soil by intercropping alfalfa (*Medicago sativa* L.) with tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and associated soil microbial activity. *Soils and Sediments* **11**:980-989.
- Susarla, S., V. F. Medina, and S. C. McCutcheon. 2002. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering* **18**:647-658.
- Terry, N., A. Zayed, and E. Pilon-Smits. 1995. Bioremediation of selenium by plant volatilization. American Chemical Society, Washington, DC (United States).
- Tilman, D., P. B. Reich, J. Knops, D. Wedin, T. Mielke, and C. Lehman. 2001. Diversity and Productivity in a Long-Term Grassland Experiment. *Science* **294**:843-845.
- Tilman, D., D. Wedin, and J. Knops. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* **379**:718-720.
- University of Florida. 2017. Arsenic hyperaccumulation in ferns. Horticultural Sciences Department, University of Florida.
- Van Noordwijk, M., G. Lawson, K. Hairiah, and J. Wilson. 2015. Root distribution of trees and crops: competition and/or complementarity. Pages 221-257 *Tree-Crop Interactions: Agroforestry in a Changing Climate*. CABI, Wallingford, UK, Wallingford, UK.
- Walter, M., C. I. Ford, J. M. Guthrie, K. Boyed-Wilson, H. J. Di, K. C. Cameron, and E. J. Parker. 2007. Bioremediation of aged pentachlorophenol residues by *Trametes* Spp. *Mycotechnology: present status and future prospects*. New Delhi: IK International Pvt Ltd:18-54.
- Wang, J., Y. Ge, T. Chen, Y. Bai, B. Y. Qian, and C. B. Zhang. 2014. Facilitation drives the positive effects of plant richness on trace metal removal in a biodiversity experiment. *PLoS One* **9**:e93733.
- Wani, B. A., A. Khan, and R. Bodha. 2011. *Salix*: A viable option for phytoremediation. *African Journal of Environmental Science and Technology* **5**:567-571.
- Ward, O. P., and A. Singh. 2004. Soil bioremediation and phytoremediation—An overview. Pages 1-12 *Applied Bioremediation and phytoremediation*. Springer.
- Wei, S., and Q.-X. Zhou. 2006. Phytoremediation of cadmium-contaminated soils by *Rorippa globosa* using two-phase planting (5 pp). *Environmental Science and Pollution Research* **13**:151-155.
- Wieshammer, G., R. Unterbrunner, T. B. García, M. F. Zivkovic, M. Puschenreiter, and W. W. Wenzel. 2007. Phytoextraction of Cd and Zn from agricultural soils by *Salix* ssp. and intercropping of *Salix caprea* and *Arabidopsis halleri*. *Plant and Soil* **298**:255-264.

- Wong, J. 1996. Heavy metal contents in vegetables and market garden soils in Hong Kong. *Environmental Technology* **17**:407-414.
- Wright, A. J., W. D. A. Wardle, W. R. Callaway, and A. Gaxiola. 2017. The overlooked role of facilitation in biodiversity experiments. *Trends in Ecology & Evolution* **32**:383-390.
- Wu, Q., Z. Wei, and Y. Ouyang. 2007. Phytoextraction of metal-contaminated soil by *Sedum alfredii* H: effects of chelator and co-planting. *Water, Air, and Soil Pollution* **180**:131-139.
- Xiong, P.-p., C.-q. He, O. Kokyo, X. Chen, X. Liang, X. Liu, X. Cheng, C.-l. Wu, and Z.-c. Shi. 2018. *Medicago sativa* L. enhances the phytoextraction of cadmium and zinc by *Ricinus communis* L. on contaminated land in situ. *Ecological Engineering* **116**:61-66.
- Yadav, B. K., M. S. Akhtar, and J. Panwar. 2015. Rhizospheric plant-microbe interactions: Key factors to soil fertility and plant nutrition. Pages 127-145 *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets*. Springer.
- Yamamoto, F., and T. Kozłowski. 1987. Effects of flooding, tilting of stems, and ethrel application on growth, stem anatomy, and ethylene production of *Acer platanoides* seedlings. *Scandinavian Journal of Forest Research* **2**:141-156.
- Yang, S., X. Han, C. Wei, J. Chen, and D. Yin. 2005. The toxic effects of pentachlorophenol on rat Sertoli cells in vitro. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **20**:182-187.
- Yoon, J., X. Cao, Q. Zhou, and L. Q. Ma. 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment* **368**:456-464.
- Zagury, G. J., Y. Comeau, L. De Gagné, L. Millette, and H. Vuillard. 2013. CIV 6216A Restauration des sols contaminés (notes de cours). 4th edition. École Polytechnique de Montréal, Montréal, QC.
- Zeng, G., C. Zhang, D. Huang, C. Lai, L. Tang, Y. Zhou, P. Xu, H. Wang, L. Qin, and M. Cheng. 2017. Practical and regenerable electrochemical aptasensor based on nanoporous gold and thymine-Hg²⁺-thymine base pairs for Hg²⁺ detection. *Biosensors and Bioelectronics* **90**:542-548.
- Zeng, P., Z. Guo, X. Xiao, C. Peng, B. Huang, and W. Feng. 2019. Complementarity of co-planting a hyperaccumulator with three metal(loid)-tolerant species for metal(loid)-contaminated soil remediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **169**:306-315.
- Zhang, C., C. Lai, G. Zeng, D. Huang, C. Yang, Y. Wang, Y. Zhou, and M. Cheng. 2016. Efficacy of carbonaceous nanocomposites for sorbing ionizable antibiotic sulfamethazine from aqueous solution. *Water Research* **95**:103-112.
- Zhang, C., G. Zeng, D. Huang, C. Lai, C. Huang, N. Li, P. Xu, M. Cheng, Y. Zhou, and W. Tang. 2014. Combined removal of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and Pb (II) by using a cutinase loaded nanoporous gold-polyethyleneimine adsorbent. *Research Advances* **4**:55511-55518.