



**HAL**  
open science

# Réseau d'interactions d'une communauté végétale constituée de plantes maraîchères et de plantes phytoremédiantes

Toulaib Kamal

► **To cite this version:**

Toulaib Kamal. Réseau d'interactions d'une communauté végétale constituée de plantes maraîchères et de plantes phytoremédiantes. *Ecologie, Environnement*. Université Paris-Est Créteil Val-de-Marne - Paris 12, 2021. Français. NNT : 2021PA120039 . tel-03774128

**HAL Id: tel-03774128**

**<https://theses.hal.science/tel-03774128>**

Submitted on 9 Sep 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## **THESE**

Pour obtenir le grade de : Docteur de l'Université Paris Est

Spécialité : Sciences de l'Univers et de l'Environnement

Présentée et soutenue publiquement par :

**Kamal Toulaïb**

### **Réseau d'interactions d'une communauté végétale constituée de plantes maraîchères et de plantes phytoremédiantes**

Soutenance le 28 mai 2021

Direction de thèse : Mme Anne REPELLIN, Professeure à l'Université Paris Est Créteil

#### **Devant un jury composé de :**

LEBEAU Thierry	Professeur, Université de Nantes	Rapporteur
BESSOULE Jean-Jacques	Directeur de Recherche, CNRS	Rapporteur
HUGUENOT David	Maître de conférences, Université Gustave Eiffel	Examinateur
JAUZEIN Michel	Professeur, Ecole Nationale des Arts et Métiers	Examinateur
BOLOU-BI Clarisse	Maître de conférences, Université Paris Est Créteil	Examinatrice
POSZWA Anne	Maître de conférences, Université de Lorraine	Examinatrice
REPELLIN Anne	Professeure, Université Paris Est Créteil	Directrice de thèse

## Remerciements

En préambule, je souhaiterais adresser tous mes remerciements aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce travail.

Tout d'abord de grands remerciements à Madame Anne REPELLIN, ma directrice de thèse (Professeure ; Université Paris Est-Créteil), pour son aide précieuse, sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion et pour le temps qu'elle a bien voulu me consacrer.

Je remercie LEBEAU Thierry, BESSOULE Jean Jacques, HUGUENOT David, JAUZEIN Michel, BOLOU-Bi Clarisse et POSZWA Anne pour avoir accepté de juger mon travail.

Un grand merci à Xavier LAFFRAY pour le soutien, technique mais surtout moral qu'il m'a apporté, pour ses conseils et pour les nombreuses choses que j'ai apprises et d'avoir pris le relais de Matthieu Bagard après son départ. Merci à l'équipe IPE (Interactions plantes-Environnement) : Luis LEITAO, Ruben Puga-Freitas et Juliette Leymarie, Eric Ruelland, Christophe Espinasse et l'équipe IEES. Merci à l'équipe LEESU : Clarisse B., Alexandre LIVET, Vanessa Alphonse, Samir Abbad, Nourredine Bousserine. Merci Clarisse pour m'avoir accompagné à écrire le premier article. Merci pour ta patience et tes conseils. Merci aussi à Thomas Lerch pour ton aide. Merci aussi à Philippe MORA et Nadia Zindy pour le complément de ma bourse. Je remercie également David Huguenot pour m'avoir accueilli dans le Laboratoire Géomatériaux et Environnement (Institut Francilien des Sciences Appliquées, Université Marne-La-Vallée). Un grand merci à Manuel Blouin et Matthieu Bagard pour votre aide et plus particulièrement dans les démarches administratives. Merci à Bernard Fabien d'avoir contribué beaucoup à cette thèse. Je remercie également à Mademoiselle Sitraka R. d'avoir participé à ce travail. Ce travail n'aurait pu aboutir sans l'aide de nombreuses personnes. Que me pardonnent celles que j'oublie ici, mais j'adresse une pensée particulière à la Banque Islamique de Développement (BID) et la Région Île de France plus particulièrement le département Val-de-Marne (Conseil Général 94) qui ont financé cette thèse. J'exprime ma gratitude à toutes les personnes rencontrées lors des recherches que j'ai effectuées et qui ont accepté de répondre à mes interrogations avec gentillesse. Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à mes parents, mes frères et soeurs : Dossar, Damir, Thamrat et Housnat et ma femme Farhati sans oublier mes chers enfants : Naïm et Marwa et tous mes proches et amis, qui m'ont aidé et toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de cette thèse.

# Table des matières

Introduction générale .....	1
Partie 1 : Etude bibliographique.....	7
1 Les constituants minéraux essentiels chez les végétaux .....	8
1.1 La classification des éléments minéraux composant les végétaux en macroéléments et micro-éléments .....	8
1.2 Conséquences de carence en oligoéléments pour les végétaux.....	10
1.3 Conséquences d'excès d'oligoéléments .....	12
2 Les éléments non essentiels dans les végétaux.....	12
2.1 La classification des éléments non essentiels en éléments traces métalliques et métalloïdes 12	
2.2 Conséquences d'excès en éléments traces: la contamination .....	13
3 Origines de la contamination des végétaux par des éléments traces .....	16
3.1 Origine naturelle des éléments traces dans un sol .....	16
3.2 Origine anthropique .....	17
3.3 Sites et sols pollués en France.....	17
3.4 Déchets et produits dérivés .....	18
3.5 Cas des friches urbaines.....	19
4 Mobilité et biodisponibilité des éléments traces dans un sol .....	20
4.1 Mobilité.....	20
4.1.1 Paramètres physico-chimiques influençant la mobilité (et/ou la biodisponibilité) résultant de facteurs abiotiques et/ou biotiques.....	20
4.2 Facteurs climatiques.....	23
4.2.1 Température.....	23
4.2.2 Lumière .....	24
4.2.3 Humidité.....	24
4.2.4 Les pratiques culturales .....	24
4.3 Biodisponibilité en éléments traces d'un sol et transfert des éléments traces vers les tissus végétaux .....	25
4.3.1 Transferts vers les tissus aériens .....	27
4.3.2 Transfert vers la rhizosphère.....	28

5	Passage des éléments traces des compartiments sol/air au compartiment plante.....	29
5.1	Effets des éléments traces sur les différentes échelles d'organisation des végétaux .....	31
6	Stratégies de réponse des espèces végétales à la présence d'éléments traces et classification des espèces végétales en fonction de leur capacité de stockage des éléments traces.....	34
6.1.1	Stratégie d'évitement .....	34
6.1.2	Stratégie de tolérance biochimique.....	34
6.1.3	Stratégie de détoxification .....	35
6.2	Les espèces qui excluent.....	35
6.2.1	Les espèces dites bioindicatrices .....	35
6.2.2	Les espèces hyperaccumulatrices.....	36
6.3	Le classement des espèces potagères .....	38
7	La mise en œuvre des capacités d'accumulation des éléments traces par les plantes à des fins remédiatrices : la phytoremédiation .....	40
7.1	Définition de la phytoremédiation .....	40
7.1.1	Phytostabilisation .....	41
7.1.2	Phytodégradation .....	41
7.1.3	Phytovolatilisation .....	42
7.1.4	Rhizodégradation.....	42
7.1.5	La phytoextraction .....	42
7.2	Avantages et limites de la phytoextraction .....	44
7.2.1	Les avantages .....	44
7.2.2	Limites.....	45
7.3	Une solution à ces limitations .....	46
7.3.1	La phytoextraction aidée.....	46
7.3.2	Phytoextraction assistée ou induite.....	47
8	De la phytoextraction par complémentarité fonctionnelle d'associations culturales à la phytoextraction combinée à la production potagère.....	49
	Partie 2 .....	53
	Matériel et méthodes .....	53
	Introduction.....	54
1	Description du site d'études .....	54

1.1	Techniques d'analyse du sol de la friche (Expérimentation 1)	56
1.2	Propriétés physico-chimiques des sols	57
1.2.1	Détermination de la quantité totale des éléments traces dans le sol	57
1.2.2	Détermination du pH eau et pH KCl	58
1.2.3	Mesure du calcaire total	58
1.2.4	Mesure du taux de matière organique du sol	58
1.2.5	Détermination de la CEC, du taux de saturation et des éléments échangeables	59
1.2.6	Mesure de la granulométrie norme	59
2	Matériel végétal	61
2.1	Protocole des prélèvements et préparation des échantillons	63
2.1.1	Récolte des végétaux	63
2.1.2	Broyage des végétaux	64
2.1.3	Protocole de nettoyage du matériel de broyage	65
2.2	Analyse des métaux dans les végétaux	65
2.3	Détermination des paramètres de phytoremédiation – Facteur de Translocation (TF) et Facteur de bioconcentration (BCF)	67
3	Expérience en mésocosmes (conditions contrôlées)	68
3.1	Sols et plantes utilisés	69
3.2	Analyses statistiques	70
	Partie 3	72
	Résultats	72
	Chapitre 1 – La phytoremédiation en sol urbain : association entre plantes potagères et phytoremédiantes	73
1	Expérience 1 ( <i>in situ</i> )	73
1.1	Avant propos	73
1.2	Expérimentation	73
2	Résultats	74
2.1	Evaluation de la biomasse sèche des plantes phytoextractrices (P5)	74
2.2	Concentrations en éléments traces dans les plantes phytoextractrices (P5)	75
2.2.1	Concentrations en As et Ni dans les plantes potagères	76
2.2.2	Concentrations en éléments traces dans les organes non comestibles influencés par les espèces phytoextractrices (P6)	79

2.2.3	Concentrations des éléments traces dans les organes comestibles influencées par les espèces phytoextractrices.....	80
2.3	Facteur de Transfert (FT) ou de Translocation.....	85
2.3.1	Les légumes fruits.....	86
2.3.2	Les légumes racines.....	87
2.3.3	Les légumes feuilles.....	88
2.3.4	Les espèces phytoextractrices et phytostabilisatrices.....	90
2.4	Quantités totales en éléments traces extraites par les plantes.....	90
3	Discussion partielle (n°1).....	104
3.1	Biomasse de plantes phytoextractrices.....	104
3.2	Concentrations des éléments traces accumulées par les phytoextractrices (P5).....	104
3.3	Concentrations des éléments traces dans les plantes potagères associées à des plantes extractrices.....	106
3.4	Facteur de Transfert (FT) des plantes potagères.....	107
3.4.1	Légumes fruits.....	107
3.4.2	Légumes racines.....	108
3.4.3	Légumes feuilles.....	109
4	Quantité totale des éléments traces extraite par les plantes.....	110
4.1	Conclusion partielle n° 1.....	113
Chapitre 2. Evaluation of trace metal accumulation in six vegetable crops intercropped with phytostabilizing plant species, in a French urban wasteland.....		115
Abstract.....		115
1	Introduction.....	116
2	Materials and methods.....	117
2.1	Study area and experimental plots.....	117
2.2	Plant materials.....	118
2.3	Plant growth and harvest.....	118
2.4	Soil sampling and analyses.....	119
2.5	Trace element (Cd, Cu, Pb and Zn) contents in plant tissues.....	120
2.6	Quality control.....	121
2.7	Trace element bioaccumulation parameters.....	121
2.8	Statistical analysis.....	122

3	Results .....	122
3.1	Physicochemical characterization of the La Pierre-Fitte soil .....	122
3.2	Impact of plant cultivation on soil total TE concentrations and TE labile fractions .....	123
3.3	Vegetable crop biomass.....	125
3.4	Trace element concentrations in plants .....	125
3.4.1	Trace element concentrations in the phytostabilizing plant species .....	125
3.4.2	TE concentrations in the non-edible parts of the vegetable plant species, as impacted by phytoremediating species .....	126
3.4.3	TE concentrations in edible plant organs as impacted by phytoremediating species...	127
4	Discussion .....	128
5	Conclusion.....	132
	Chapitre 2. EDDS assisted metal phytoextraction by <i>Brassica oleracea</i> and <i>Sinapis alba</i> in monoculture or co-culture.....	134
	<i>Abstract</i> .....	133
	<i>Introduction</i> .....	134
	<i>Materials and Methods</i> .....	136
	<i>Soil, plants and experimental design</i> .....	136
	<i>Plant biomass and TE concentration in tissues</i> .....	137
	<i>Rhizosphere microbial communities characterization</i> .....	138
	<i>Statistical analysis of data</i> .....	139
	<i>Results</i> .....	139
	<i>Plant biomass</i> .....	139
	<i>Total trace elements and metalloids content in the study plants</i> .....	140
	<i>Translocation factor (TF) in <i>Brassica oleracea</i> and <i>Sinapis alba</i></i> .....	143
	<i>Bioconcentration factor (BCF) in <i>Brassica oleracea</i> and <i>Sinapis alba</i></i> .....	143
	<i>Rhizosphere bacterial communities</i> .....	144
	<i>Discussion</i> .....	146
	<i>Plant biomass and associated microbial communities</i> .....	146
	<i>Total metals content in the study plants</i> .....	147
	<i>Phytoextraction efficiency (TF) and (BCF)</i> .....	149
	<i>Conclusions</i> .....	150



DISCUSSION GENERALE .....	152
1 Caractérisation physico-chimique des sols d'étude .....	153
1.2 Associations plantes potagères et plantes phytoextractrices (extractrices et stabilisatrices) ....	154
1.2.1 La biomasse sèche.....	154
1.3 Les cultures potagères en monoculture, seuls les légumes fruits ont une faible absorption des éléments traces. ....	155
1.3.1 Facteurs de transfert (FT) en monoculture, seuls les légumes fruits ne dépassent pas la valeur fixée.....	157
1.3.2 Facteur de bioconcentration .....	158
1.4 L'association entre plantes potagères et espèces phytostabilisatrices (parcelle P4) .....	159
1.5 La co-culture entre plantes potagères et plantes phytoextractrices (P6) .....	160
1.6 Plantes phytostabilisatrices seules P3 .....	162
1.7 Plantes phytoextractrices seules (P5).....	163
2 Influence de l'EDDS sur la phytoextraction des éléments traces de <i>Sinapis alba</i> en monoculture ou en co-culture avec <i>Brassica oleracea</i> .....	164
2.1 Effets cultures de <i>Sinapis alba</i> et <i>Brassica oleracea</i> .....	164
2.2 Effets EDDS de <i>Sinapis alba</i> et <i>Brassica oleracea</i> .....	166
Conclusion générale et Perspectives .....	168
Références bibliographiques .....	171

## Table des figures

Partie 1 : Etude bibliographique.....	7
Figure 1 : Courbes doses-réponses typiques (a) des éléments traces essentiels (micronutriments) et (b) des éléments traces non essentiels.....	13
Figure 2 : Les végétaux comme organismes soumis à diverses sources de contamination par des éléments traces non essentiels .....	16
Figure 3: Nombre de sites et sols pollués par région.....	18
Figure 4: Part des différentes sources de contamination dans l'estimation des quantités totales d'éléments traces entrant sur les sols agricoles en France.....	18
Figure 5 : Les trois processus impliqués dans l'absorption et la séquestration des métaux lourds. ....	28
Figure 6: Transport des éléments traces vers la racine, par diffusion et par flux de masse .....	29

Figure 7 : Coupe transversale d'une racine montrant le transport des éléments traces d'une cellule à l'autre dans le végétal symplasmique et par voie apoplasmique .	31
Figure 8 : Cette figure montre la différence entre les plantes hyperaccumulatrices et les plantes non accumulatrices.	37
Figure 9: Les principales techniques de phytoremédiation (Pilon-Smits, 2005).	41
Figure 10: Comparaison des rapports coûts/efficacité pour différentes stratégies de dépollution de sites contaminés aux éléments traces	45
Figure 11. Le processus de phytoextraction induite en présence de chélateurs. Les chélateurs ont tendance à augmenter la biodisponibilité des métaux lourds dans le sol	49
Partie 2 Matériel et méthodes.	53
Figure 13. Cartographie des mailles incompatibles pour la fréquentation du public d'après le rapport de l'EQRS du site de La Pierre-Fitte	57
Figure 14 : Disposition des parcelles du site de Pierre-La-Fitte.	63
Figure 15 : Broyeur des végétaux avec broyeur rapide à rotor « Pulvérisette 14» (Fritsch) ...	65
Figure 16 : Plaque de minéralisation et tubes à minéraliser utilisés pour les échantillons de végétaux	66
Figure 17: Filtration des échantillons après minéralisation	66
Figure 18 : Appareil ICP-OES (Perkin Elmer Optima 8300) pour le dosage des éléments traces dans les végétaux	67
Figure 19 : Plan du dispositif expérimental en pots dans la parcelle de l'université Paris Est.	70
Partie 3	72
Figure 1 : Biomasses sèches des plantes phytoextractrices (P5).	74
Figure 3. Concentration moyenne d'As (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères.	77
Figure 4. Concentration moyenne de Ni (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères.	79
Figure 5. Concentration moyenne de Cd (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères.	82
Figure 6. Concentration moyenne de Cu (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères.	83
Figure 8. Concentration moyenne de Zn (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères.	85
Figure 9. Quantités totales extraites en As par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes	92

Figure 10. Quantités totales extraites en Cd par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes.....	94
Figure 11. Quantités totales extraites en Cu par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes.....	96
Figure 12. Quantités totales extraites en Ni par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes .....	98
Figure 13. Quantités totales extraites en Pb par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes.....	100
Figure 14. Quantités totales extraites en Zn par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes.....	103

## **Table des tableaux**

Partie 1 : Etude bibliographique.....	7
Tableau 1: Eléments essentiels et concentrations internes dans les tissus végétaux considérées comme optimales pour la croissance d'une plante terrestre. ....	9
Tableau 2 – Microéléments essentiels et non essentiels présents dans les tissus végétaux, rôles physiologiques assurés dans les tissus et symptômes de carence associés.....	11
Tableau 3: Limites de toxicité des métaux (mg/kg).....	15
Tableau 4: Influence des propriétés du sol sur la mobilité des métaux .....	25
Tableau 5: Principaux facteurs liés au sol et contrôlant le transfert des éléments traces du sol vers le végétal .....	26
Tableau 6: Effets des éléments traces sur les végétaux .....	33
Tableau 8: Liste de quelques plantes hyperaccumulatrices .....	37
Tableau 9 - Classification d'espèces potagères en fonction de leur capacité à l'accumulation d'éléments traces. ....	39
Tableau 10. Accumulation d'éléments-traces dans les organes des plantes potagères les plus cultivées en France .....	39
Partie 2 Matériel et méthodes.....	53
Tableau 1 : Récapitulatif des espèces utilisées .....	61
Partie 3 .....	72
Tableau 1: Facteur de transfert mesurés dans les légumes fruits (tomate et haricot). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices) et P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices). ....	87

Tableau 2: Les valeurs du facteur de transfert pour les légumes racines (radis et pomme de terre). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices) et P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices). .....	88
Tableau 3: Valeurs du facteur de transfert pour les légumes feuilles (épinard et poireau). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices) et P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices). .....	89
Tableau 4: Les valeurs du facteur de transfert pour les espèces phytoextractrices et phytostabilisatrices (Partie aérienne/Partie racinaire). .....	90
Evaluation of trace metal accumulation in six vegetable crops intercropped with phytostabilizing plant species, in a French urban wasteland .....	115
Table 1: Biomass of <i>Brassica oleracea</i> and <i>Sinapis alba</i> . .....	140
Table 2: Total metals (mg/kg MS) content of <i>Brassica oleracea</i> .....	141
Table 3: Total metals (mg/kg MS) content in <i>Sinapis alba</i> in monoculture, coculture with or without EDDS. ....	141

## Résumé

Au cours des dernières années, l'agriculture urbaine plus précisément de cultures maraîchères en ville se développe en France, et notamment en Ile de France sous plusieurs formes (en pleine terre, dans des bacs de cultures, sur des toits...etc. Ces activités sont souvent faites dans des espaces délaissés, des friches, qui pourraient être revalorisés. La culture de légumes sur ces sols peut entraîner un risque pour la santé, en particulier par la contamination de la chaîne alimentaire. Dans cette étude, nous visons à évaluer de nouvelles approches pour la reconversion du site, sa décontamination et de nouvelles pratiques, notamment celles destinées à l'agriculture urbaine. En particulier, ma thèse porte sur deux expérimentations: la première a été réalisée sur le terrain sur un sol présentant une multi-contamination (As, Cd, Cr, Ni, Pb, Zn) avec six modalités : Sol nu (P1), plantes potagères seules : *Solanum lycopersicum* L. (tomate var. Marmande), *Phaseolus vulgaris* L. (haricot var. Fin de Bagnols), *Raphanus sativus* L. (radis var. 18 jours), *Solanum tuberosum* L. (pomme de terre var. Charlotte), *Spinacia oleracea* L. (épinard var. Junius), *Allium porrum* L. (poireau var. Bleu de Solaise) P2, plantes phytostabilisatrices : Rayegrass (*Lolium perenne* L. Var. NUI), Trèfle blanc (*Trifolium repens* L.), Luzerne (*Medicago sativa*) P3, plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices (P4), plantes phytoextractrices : Moutarde brune (*Brassica juncea*), Moutarde blanche (*Sinapis alba*), Corbeil d'or (*Aurinia saxatilis*) P5 et plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices (P6). Cette première étude permet de mesurer la contamination des productions potagères et voir si la co-culture des deux types de plantes peut limiter l'absorption des polluants dans les parties consommables.

La seconde expérimentation effectuée en mesocosmes avec l'introduction de *Brassica oleracea* et *Sinapis alba* en monoculture ou co-culture, en présence ou en absence d'acide [S,S] éthylènediaminedisuccinique (EDDS) vise à accélérer la biodisponibilité des éléments traces du sol vers les parties aériennes des végétaux. Les résultats montrent que la co-culture plantes potagères-plantes extractrices (P6) favorise le transfert des polluants vers les parties comestibles, ce qui entraîne un dépassement du seuil réglementaire fixé par l'Union européenne (n° 1881/2006) dans les légumes testés à l'exception de la tomate (Pb), de l'épinard et poireau (partie blanche) pour le Cd. Cependant, Zn a été au dessous du seuil sauf pour l'épinard dans les feuilles sur les parcelles P4 (plantes potagères + espèces phytostabilisatrices) et P6 (plantes potagères + espèces phytoextractrices). Lorsque les plantes potagères sont combinées avec les plantes phytostabilisatrices (P4), les teneurs en Cd dans les parties consommables de tomate, du radis, de la pomme de terre, de l'épinard et du poireau

(partie verte) sont inférieures à la norme CEE (n° 1881/2006). Pour Pb sur la même parcelle (P4), seuls la tomate et le poireau (partie verte) sont en-dessous de la limite fixée par la CEE. Les résultats des plantes phytoextractrices (P5) montrent une faible efficacité de dépollution et une limitation de l'extraction de certains éléments traces par la biodisponibilité sur le site d'étude. Les plantes phytostabilisatrices (P3) montrent des meilleurs résultats pour la plupart des éléments traces plus particulièrement *Lolium perenne* et *Trifolium repens*. Les résultats obtenus dans la seconde expérience montrent qu'en présence de l'EDDS, la plupart des éléments traces s'accumulent dans les racines quelle que soit l'espèce. En comparant entre les deux systèmes de culture, l'absorption des éléments traces a tendance à diminuer lorsque les deux espèces sont cultivées en association bien que cette différence ne soit pas significative. Par contre lorsque l'EDDS a été ajouté, l'accumulation est bien présente dans la culture seule (monoculture). Dans l'ensemble, il n'y a eu aucune influence de la co-culture ni de l'EDDS sur l'activité des communautés bactériennes de la rhizosphère de chaque plante.

**Mots clés :** Phytoextraction, phytostabilisation, légumes, co-culture, monoculture, EDDS.

## Abstract

Over the past few years, urban agriculture, more precisely of market gardening in the city, has developed in France, and in particular in Ile de France in several forms (in the ground, in crop containers, on roofs, etc.). These activities are often carried out in abandoned areas, wasteland, which could be revalued. Growing vegetables on these soils can lead to health risks, because pollutants enter food chains. In this study, we assessed new approaches for the decontamination of polluted sites, and their reconversion as sites suitable for urban agriculture.

More specifically, this thesis deals with two independent experiments, one conducted *in situ*, the other conducted *ex situ*. The first was carried out in the field, on an anthroposol presenting a polyelement pollution (As, Cd, Cr, Ni, Pb, Zn). Six setups were used: (P1), bare soil; (P2), vegetable crops: *Solanum lycopersicum* L. (tomato var. Marmande), *Phaseolus vulgaris* L. (french bean var. Fin de Bagnols), *Raphanus sativus* L. (radish var. 18 jours), *Solanum tuberosum* L. (potato var. Charlotte), *Spinacia oleracea* L. (spinach var. Junius), *Allium porrum* L. (leek var. Bleu de Solaise); (P3), phytostabilizing plants: raygrass (*Lolium perenne* L.), white clover (*Trifolium repens* L.), alfalfa (*Medicago sativa*); (P4) vegetable crops combined with phytostabilizing plants; (P5) phytoextracting plants: brown mustard (*Brassica juncea*), white mustard (*Sinapis alba*), *Aurina saxatile*; (P6) vegetable crops combined with phytoextracting plants. In the first study, we aim at measuring the contamination of vegetable productions and assessing if the co-culture of two plant types could limit pollutant absorption in the edible plant parts.

The second experiment carried out in pots wherein *Brassica oleracea* plants and *Sinapis alba* plants were introduced either as mono- or co-cultures, with the addition or not of Ethylenediamine-N,N'-disuccinic acid (EDDS). This compound aimed at improving the bioavailability of trace elements from the soil to the aerial parts of the plants.

The results showed that co-cultivation of vegetable crops with phytoextracting plants (P6) promoted the transfer of pollutants to the edible parts and led to exceeding the regulatory threshold set by the European Union in the vegetables except in tomato for Pb, spinach and leek (white part) for Cd. However, Zn contents were below the EU threshold, except in spinach leaves in cropping modalities P4 and P6. When the vegetable crops were combined with phytostabilizing plants (P4), the Cd contents in the consumable parts of the tomato, radish, potato, spinach and leek (green part) were lower than the EU standards (n °

1881/2006). For Pb under P4 conditions, only tomatoes and leeks (green parts) were below the limits fixed by the EU. The results with phytoextracting plants (P5) showed poor depollution efficiency and a limitation of the extraction to certain trace elements. Phytostabilizing plants (P3) led to better results for most of trace elements, more specifically for *Lolium perenne* and *Trifolium repens*

The results obtained in second the experiment showed that in the presence of EDDS, most of the trace elements accumulate in the roots, regardless of the plant species. Comparing the two cropping systems showed that the absorption of trace elements tended to decrease when two plant species are combined, although differences were not significant. On the other hand, when EDDS has been added, the accumulation was clearly present in the culture alone (monoculture). Overall, there was no influence of co-culture nor EDDS on the rhizosphere bacterial communities of each plant.

**Key Words:** Phytoextraction, phytostabilization, vegetables, co-culture, monoculture, EDDS.



## Introduction générale

Le sol est la composante superficielle de l'écorce terrestre sur laquelle se développent les plantes. C'est un véritable milieu dans lequel les organismes et micro-organismes jouent un rôle primordial dans sa formation et son évolution. Il est la plus grande portion de la terre sur laquelle se développent les activités anthropiques. Du point de vue écologique, le sol est une composante majeure de l'écosystème terrestre, à l'interface de l'atmosphère, de l'hydrosphère, de la lithosphère et de la biosphère (Gobat *et al.*, 1998). Il joue un rôle très important dans le fonctionnement des cycles biogéochimiques des macroéléments et éléments traces, dans le cycle de l'énergie et celui de l'eau (Bourrelier, 1998). Aujourd'hui, ce milieu de vie est menacé par les activités humaines, la surexploitation des écosystèmes et le développement industriel non contrôlé. La pollution des sols par les éléments traces est devenue au cours des dernières décennies une problématique importante dans le monde. Le trafic automobile, par ses émissions de micropolluants métalliques, l'extraction minière, l'irrigation avec des eaux usées, les résidus de combustion du charbon, le déversement des produits pétrochimiques et l'élimination des déchets à forte teneur en métaux constituent ou peuvent constituer une source de contamination de l'environnement (Escande *et al.*, 2014 ; Khan *et al.*, 2008 ; Zhang *et al.*, 2010 ; Vamerali *et al.*, 2010).

La contamination des sols peut résulter de la pollution humaine (pollution anthropique), mais aussi de la nature elle-même (pollution naturelle). La pollution du sol se traduit par les éléments bioaccumulés tout au long de la chaîne alimentaire en raison du transfert vers les plantes et les écosystèmes aquatiques par lessivage des sols, les eaux de pluies et de drainage. Les études sur la santé humaine indiquent que la présence des contaminations par les éléments traces constitue aujourd'hui un risque pour l'homme et l'écosystème, notamment par l'ingestion directe de biosolides contaminés, l'inhalation d'aérosols, le contact avec un sol contaminé, la chaîne alimentaire (sol-plante-homme ou sol-plante-animal-humain), la consommation d'eau ayant percolé au travers du sol contaminé (lessivage). Cette contamination du sol a pour conséquence une réduction des terres pour la production agricole, d'où une insécurité alimentaire (Ling *et al.*, 2007). L'accumulation d'éléments traces dans les sols agricoles peut résulter d'apports d'éléments fertilisants (compost, engrais minéraux, boues), et épandage de produits phytosanitaires.

Les friches industrielles, pollution anthropique, sont définies comme anciens espaces d'activité abandonnés et sous-utilisés se situant principalement dans les zones urbaines développées où les espèces végétales poussent sans contrôle humain. Elles peuvent être des sources de contamination réelles ou perçues. Elles sont souvent négligées dans le plan de conversation\_ (Audrey *et al.* 2007 ; Nathanail *et al.* 2003). L'étude de ces friches est un outil d'évaluation de la biodiversité et on peut y définir des plans de réhabilitation et réintégration urbaine.

En général, les sites contaminés ne sont plus utilisés et sont soumis à une surveillance rigoureuse, compte tenu de leurs éventuels effets négatifs sur la santé humaine et l'environnement. Cependant, la population mondiale notamment celle urbaine, ne cesse d'augmenter ces derniers temps (Mougeot, 2005), et la problématique majeure est celle de l'alimentation des villes (Bricas et Seck, 2004). La demande croissante pour des aliments nécessiterait l'exploitation d'une partie des terres généralement contaminées. Par conséquent, il n'existe pas d'autre solution que de développer de nouvelles pratiques agricoles adaptées à ces environnements, pour permettre une production de qualité dans des zones actuellement considérées comme toxiques et incompatible avec l'agriculture.

La contamination des sols est une problématique majeure qu'il faut évaluer pour informer les utilisateurs. Pour exemple, le site de La Pierre-Fitte choisi pour le cadre de notre étude est une friche industrielle d'une superficie de 8 hectares situé dans les darses de la Carelle à Villeneuve-le-Roi (94), en bordure de Seine. Le Conseil Général du Val-de-Marne (CG94) a fait le choix de revaloriser ce terrain en friche par la mise en place d'un projet d'aménagement d'un espace naturel pour les habitants (CG94, 2013a). Les rapports préliminaires, études agropédologiques (CG94 2013c) et EQRS (CG94 2013b) ont permis de découper le site en deux grandes zones : (1) au Sud, 6 hectares de friches peu ou pas contaminées pouvant être ouvertes au public, (2) au Nord, 2 hectares fermés au public du fait d'une contamination par des éléments traces (principalement Pb, Cu, Zn et Cd). Des auteurs ont utilisés des techniques de dépollution des éléments traces dans le sol par les plantes (Rulkens *et al.*, 1998 ; Mueller *et al.*, 1999 ; Whiting *et al.*, 2001 ; Wu *et al.*, 2007 ; Xiong *et al.*, 2018).

La phytoremédiation est définie comme le processus par lequel les plantes ont pour finalité, soit d'enlever, soit de minimiser, soit d'immobiliser les polluants liés à la contamination des sols (Alkorta, 2004 ; Sureshand Ravishankar, 2004). Aussi, le développement de méthodes utilisant des plantes pour réhabiliter les sols pollués fait partie des technologies vertes et présente un intérêt croissant ces dernières décennies (Gratao *et al.*, 2005) car la

phytoremédiation apparaît comme un processus de remédiation pertinent. Cette technique est apparue dans les années 1990 (Salt *et al.*, 1994), après avoir été présentée quelques années auparavant (Chaney, 1983).

Elle présente des avantages écologiques (technologie respectueuse de l'environnement) et financiers (faible coût de réhabilitation des sols pollués), (Gratao *et al.*, 2005). La réhabilitation des sols contaminés par phytoremédiation a un coût très raisonnable mais est souvent plus longue comparativement aux traitements physico-chimiques qui sont souvent coûteux tels que le traitement par extraction électrique, extraction par chauffage, extraction par aspiration ou par injection, l'incinération ou le lessivage des sols (Verdin, 2004). Mais elle est variable en fonction des caractéristiques du sol, de la nature des métaux considérés, du degré de la pollution, des espèces végétales employées et des usages présents et futurs du site considéré (Bert, 2012). Parmi les techniques de la phytoremédiation les plus utilisées sont la phytoextraction et la phytostabilisation (Krämer, 2005; Liu *et al.*, 2006 ; Yang *et al.*, 2016). La phytoextraction consiste en une absorption des polluants des sols et des eaux polluées dans leurs parties aériennes (Bert, 2012 ; Luo *et al.*, 2005). La phytostabilisation vise à réduire leur mobilité dans le sol, sans les éliminer (Ruttens *et al.*, 2010).

Le transfert de ces polluants vers les plantes a été largement étudié pour ses implications physiologiques et agronomiques. Dans certains cas, les plantes sont capables d'accumuler à des éléments traces en quantités importantes et de les concentrer dans leurs parties récoltables ; d'autres ont des propriétés hyperaccumulatrices, qui pourraient être utilisées pour traiter les sols plus pollués.

Le prélèvement des éléments traces dépend de la demande des plantes, c'est-à-dire de leur besoin (oligo-éléments) et de leur aptitude à prélever ou à exclure les éléments toxiques de leurs tissus (Bourrelier, 1998). Les espèces végétales réagissent de façon différente. Certaines de ces espèces sont peu voire non tolérantes et dépérissent au contact des éléments traces. D'autres espèces de plantes peuvent être classées en quatre groupes en fonction des facteurs de transfert sol-plante des éléments traces (teneur dans les tissus/teneur dans le sol), les indicatrices, les excluantes, les accumulatrices et les hyperaccumulatrices (Baker, 1981). Les espèces tolérantes ont la capacité à s'installer, survivre et se développer sur les sols pollués (Antonovics *et al.*, 1971). Certaines espèces ont la capacité d'accumuler les métaux à des concentrations inhabituelles chez les végétaux. Par exemple, *Thlaspi caerulescens* L., une *Brassicaceae*, peut contenir jusqu'à 4% de zinc dans la matière sèche des feuilles (Baker *et al.*, 1994). Les plantes hyperaccumulatrices représentent un potentiel pour la gestion des sols

pollués dans la mesure où elles peuvent extraire les métaux toxiques des sols, les transporter et les immobiliser dans leurs parties aériennes (Chaney, 1983 ; Baker *et al.*, 1994 ; Schwartz, 1997).

Pour notre recherche, une des techniques envisagées pour la gestion des sols urbains pollués en vue de produire des aliments, est de cultiver des plantes phytoremédiantes en association avec des plantes potagères non accumulatrices des éléments traces. Des études concernant des approches agronomiques ont montré que les cultures en association donnent des résultats intéressants pour la production, l'environnement et l'amélioration de la structure du sol et son aération (Gong *et al.*, 2001 ; Lu *et al.*, 2017). En plus, cette méthode permet de réduire la prolifération des maladies et des parasites, et peut également influencer l'absorption des éléments traces métalliques (Whiting *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2009, Liu *et al.*, 2012). La co-culture ou les cultures intercalaires peuvent modifier les conditions de la rhizosphère commune et ainsi affecter la disponibilité des métaux sélectionnés pour les plantes consommées. La co-culture de deux espèces végétales ayant des capacités contrastées d'accumulation de métaux pourrait améliorer l'efficacité de la phytoremédiation et assainir les sols contaminés par les métaux d'une manière naturellement améliorée (Ye-Tao *et al.*, 2012). L'association entre plante phytoremédiante et plante non phytoremédiante a fait l'objet de très peu d'études. On peut cependant citer l'association *Nocca caerulescens* L. (anciennement : *Thlaspi caerulescens*) - *Thlaspi arvense* L. développée par Whiting *et al.*, (2001) pour réduire les éléments toxiques dans les rhizosphères de *T. caerulescens* ou encore l'association *Sedum alfredii* - *Zea mays* L. étudiée par Wu *et al.*, (2007) , l'association de *Brassica napus* L. et *Brassica parachiment* L. ou *Zea mays* L. développée par Selvan *et al.*, (2009) pour tester si la combinaison des deux espèces peut augmenter l'absorption de Cd dans la plante hyperaccumulatrice (*Brassica napus* L).

La présente étude s'inscrit dans le cadre du projet Reconversion d'une Friche urbaine en Jardin (ReFUJ) financé par la région Île-de-France (2015-2017) dans le cadre des financements : Partenariats Institutions-Citoyens pour la Recherche et l'Innovation (PICRI) pour la recherche participative. Ce projet vise à étudier le transfert des polluants métalliques dans les réseaux trophiques. Ce doctorat a pour finalité générale d'évaluer de nouvelles démarches pour la reconversion de ce site, sa décontamination et de nouvelles pratiques, notamment celles destinées à l'agriculture urbaine. Néanmoins, la culture potagère sur les parcelles en reconversion s'interrompt fréquemment par la présence dans les sols urbains de contaminants toxiques.

Emanant des activités passées et présentes de l'homme, ces polluants persistants issus de produits de l'agriculture en zone urbaine peuvent se concentrer dans les organismes et finalement dans l'assiette du consommateur. C'est dans ce contexte que nous avons mesuré ces polluants dans les végétaux par la pratique de nouvelles approches de culture potagère sur sols pollués basées sur la complémentarité fonctionnelle d'espèces végétales choisies. Pour atteindre cet objectif, des expérimentations ont été réalisées par la mise en place de cultures associées, plantes potagères et plantes remédiantes (phytoextractrices ou phytostabilisatrices) directement sur le site pollué et en conditions semi-contrôlées sur des sols issus de La Pierre-Fitte.

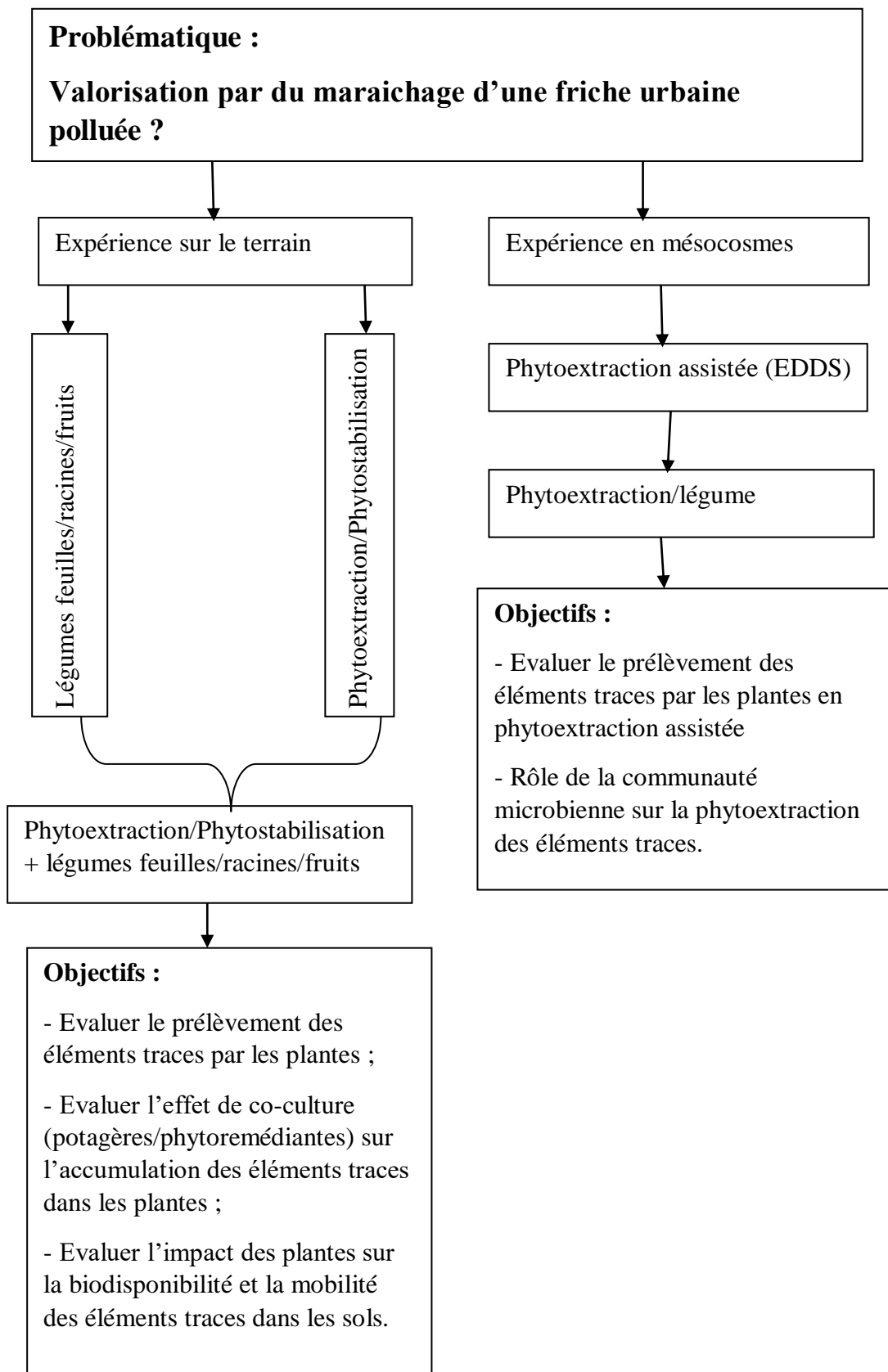
L'hypothèse est que la complémentarité fonctionnelle au sein d'une communauté végétale peut permettre la production sur sol contaminé de plantes destinées à l'alimentation. Par co-culture avec des espèces phytoextractrices, les éléments traces biodisponibles dans le sol devraient être absorbés de façon privilégiée par les plantes extractrices, préservant de la contamination les espèces végétales destinées à la consommation. Dans le cas de la co-culture avec les espèces phytostabilisatrices, la réduction de la biodisponibilité des éléments traces limiterait leur absorption dans les plantes potagères. C'est dans ce contexte que nous avons testé sur ce site pollué l'association de plantes potagères et phytoremédiantes susceptibles de limiter l'accumulation des métaux dans les parties consommées des potagères.

Dans le cadre du présent travail, nous proposons dans une première partie une synthèse bibliographique sur les éléments non essentiels et essentiels pour les végétaux, leur mobilité dans les tissus végétaux et la présentation des techniques de phytoremédiation. Dans la deuxième partie sont présentés le matériel, les méthodes et les techniques d'analyse utilisés pour répondre aux hypothèses posées.

La troisième partie est consacrée aux résultats relatifs à :

- l'accumulation des éléments en traces dans six légumes cultivés avec des espèces utilisées pour la phytostabilisation ;
- l'influence de l'EDDS sur la phytoextraction des éléments en traces de *Sinapis alba* L. en monoculture ou en co-culture avec *Brassica oleracea* L.

Dans la quatrième et dernière partie du document, les résultats sont discutés et des perspectives sont présentées.



# **Partie 1 : Etude bibliographique**

## **1 Les constituants minéraux essentiels chez les végétaux**

La croissance et le développement d'un végétal terrestre dépendent d'un certain nombre de facteurs abiotiques, dont l'alimentation minérale n'est pas le moindre. La nutrition minérale est très étroitement liée à l'alimentation en eau puisque celle-ci est indispensable à l'ionisation des éléments minéraux dans le sol et à leur distribution à l'intérieur des cellules, essentiellement par la sève brute. Et la circulation de la sève brute dans les végétaux dépend de l'activité stomatique, fonction, entre autre, de l'intensité de la lumière incidente. Certains éléments minéraux nécessaires à la construction d'une plante et au fonctionnement de son métabolisme sont considérés comme étant essentiels (Epstein, 1972). Selon plusieurs auteurs, le caractère essentiel de ces éléments est fondé sur deux critères principaux : a) en l'absence de l'élément, la plante est incapable de boucler son cycle de développement, b) cet élément fait partie d'un constituant ou d'un métabolite lui aussi essentiel au métabolisme (Arnon et Stout, 1939 ; Epstein, 1972).

### **1.1 La classification des éléments minéraux composant les végétaux en macroéléments et micro-éléments**

Classiquement, les éléments minéraux indispensables à la plante sont divisés en deux types, les macroéléments et les micro-éléments (Tableau 1). La distinction entre les deux catégories est basée sur les concentrations généralement observées dans les tissus végétaux.

- Les macroéléments systématiquement présents en quantités relativement importantes (au minimum 0,1% de la masse végétale sèche) sont l'azote, le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le soufre, la silice. Le carbone, l'hydrogène et l'oxygène ne sont généralement pas considérés comme des éléments minéraux parce qu'ils sont obtenus essentiellement à partir de l'eau et du dioxyde de carbone (Taiz et Zeiger, 2002).
- Les micro-éléments (encore appelé oligoéléments) sont des éléments essentiels à la croissance des plantes et présents en quantités moindres que celles correspondant aux macroéléments (au maximum 0,1% de la masse végétale sèche). Ce sont : le fer, le zinc, le cuivre, le manganèse, le bore, le molybdène, le chlore, le nickel, le sodium mais qui deviennent toxiques pour les êtres vivants s'ils sont présents en excès dans leurs cellules (Epstein, 1972 ; Robert et Mendel, 2009). Tous ces éléments sont dénommés éléments traces, constituant moins de 0,1% de la croûte terrestre, sauf en cas de contamination métallique. L'appellation des éléments traces métalliques est



parfois ambiguë car il n'y a pas de définition officielle. Dans ce travail, nous préférons utiliser le terme éléments traces dans le sens de l'impact toxique sur l'environnement.

Tableau 1: Eléments essentiels et concentrations internes dans les tissus végétaux considérées comme optimales pour la croissance d'une plante terrestre (Epstein 1972, 1999).

	Elément	Forme disponible pour les plantes	Concentration en MS (% ou ppm) <small>les valeurs des micronutriments sont exprimées en ppm</small>	Rôles principaux
	<b>Obtenu à partir d'eau ou de dioxyde de carbone</b>			
Macroéléments	Hydrogène (H)	H <sub>2</sub> O	6	Groupe I : Constituants essentiels des composés organiques (acides aminés, acides nucléiques..).
	Carbone (C)	CO <sub>2</sub>	45	
	Oxygène (O)	O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub>	45	
	<b>Obtenu à partir du sol</b>			
	Azote (N)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1,5	Groupe III : Maintien de l'équilibre osmotique, des potentiels électriques, cofacteurs d'enzymes (sous forme ionique)
	Souffre (S)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,1	
	Calcium (Ca)	Ca <sup>2+</sup>	0,5	
	Magnésium (Mg)	Mg <sup>2+</sup>	0,2	
	Potassium (K)	K <sup>+</sup>	1,0	
	Phosphore (P)	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,2	Groupe II : Conservation, transfert d'énergie, intégrité structurale et régulations de l'activité protéique (sucres-phosphates, acides nucléiques, phospholipides, ATP...)
Silicium (Si)	SiO <sub>2</sub>	0,1		
Micro-éléments	Bore (B)	BO <sub>3</sub> <sup>3-</sup>	20	Groupe III
	Chlore (Cl)	Cl <sup>-</sup>	100	
	Manganèse (Mn)	Mn <sup>2+</sup>	50	
	Cuivre (Cu)	Cu <sup>2+</sup>	6	Groupe IV : Dans des groupes prosthétiques, catalyses des réactions redox (constituants des cytochromes, oxydases...).
	Fer (Fe)	Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	100	
	Molybdène (Mo)	Mo <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,1	
	Nickel (Ni)	Ni <sup>2+</sup>	0,1	
	Zinc (Zn)	Zn <sup>2+</sup>	20	

Il faut noter qu'en plus de la classification des éléments minéraux selon les teneurs dans les tissus végétaux, il existe aussi une classification basée sur les rôles joués par ces éléments dans la physiologie de la plante. Ainsi, Evans et Sorget (1966) ; Mengel et Kirby (1987) ont proposé quatre groupes fonctionnels d'éléments minéraux : 1) les éléments inclus dans des molécules organiques, 2) les éléments importants pour le stockage d'énergie et l'intégrité structurale, 3) les éléments demeurant sous forme ionique et enfin 4) les éléments impliqués dans les processus de transfert d'électrons (tableau 1). Cette liste permet de balayer les grandes fonctions assurées par les éléments minéraux dans les plantes qui couvrent tous les aspects de la physiologie de ces organismes. Il n'est pas donc étonnant donc que les carences à l'origine de désordres nutritionnels qui à leur tour, vont affecter tous les aspects de la physiologie de la plante. Dans ce qui suit, ne seront abordées que les carences concernant les micro-éléments minéraux.

## **1.2 Conséquences de carence en oligoéléments pour les végétaux**

Une plante qui est incapable d'accomplir la phase végétative ou reproductive de sa vie est considérée comme déficiente (Yves et Coppenet, 1989). La classification fonctionnelle décrite plus haut assigne la plupart des microéléments au groupe 4. Ainsi, ces éléments sont impliqués dans de nombreuses réactions d'oxydoréduction et assurent des rôles catalytiques en tant que cofacteurs enzymatiques (Taiz et Zeiger, 2002). Par déduction, il est possible d'imaginer les désordres métaboliques induits, d'abord à l'échelle cellulaire, par des carences en micro-éléments. A l'échelle des différents organes des plantes, ces carences se manifestent par des symptômes qui sont bien connus des physiologistes et des agronomes (Tableau 2). Si la carence n'est pas compensée, c'est la production de biomasse, c'est-à-dire le rendement qui sera affecté (Figure 1a).

Tableau 2 – Microéléments essentiels et non essentiels présents dans les tissus végétaux, rôles physiologiques assurés dans les tissus et symptômes de carence associés (Taiz et Zeige, 2003).

<b>Elément</b>	<b>Rôles physiologiques</b>	<b>Symptômes de carence</b>
Bore	Synthèse des acides nucléiques et protéines, le transport des sucres, stimule la germination et l'élongation du tube polliniques.	Croissance réduite des bourgeons, raccourcissement des entre-nœuds, brunissement des feuilles, nécrose noire des jeunes feuilles et des bourgeons terminaux. Présentation des nécroses ou des anomalies dans les fruits, les racines, les tubercules liés à la dégradation des tissus internes.
Magnésium	Nécessaire pour de nombreuses enzymes impliquées dans le transfert du phosphate. Il constitue un facteur important dans la constitution de la chlorophylle, substance déterminant pour la photosynthèse.	Apparition de la chlorose entre les nervures des feuilles. Les feuilles peuvent devenir jaunes ou blanches et une abscission prématurée des feuilles.
Chlore	Intervient dans l'osmose et l'équilibre ionique, indispensable aux réactions synthétiques produisant l'O <sub>2</sub>	Réduction de la surface des feuilles, flétrissement de la plante, systèmes racinaires restreints et épaissies près des extrémités.
Sodium	Il est impliqué dans la régénération du phosphoénolpyruvate dans les plantes C4 et CAM. Chez certaines plantes, il peut être utilisé comme substitut partiel du potassium.	Développement de chlorose et nécrose, voire ne parviennent pas à former de fleurs.
Manganèse	Cofacteur de nombreuses enzymes en particulier des décarboxylases et des déshydrogénases. Impliqué avec d'autres enzymes activées par des cations et l'évolution de la photosynthèse.	Dépérissement des cotylédons, chute du taux de chlorophylle. Chlorose entre les nervures de la feuille.
Fer	Assure la photosynthèse, la fixation d'azote, la respiration mitochondriale, la biosynthèse des hormones	Chloroses, brunissement du pétiole des feuilles, ralentissement du développement
Molybdène	Entre dans la synthèse de deux enzymes nécessaires à l'assimilation de l'azote (nitrate réductase et xanthine déshydrogénase)	Croissance réduite et limitée et une fructification très rare. Présente de la chlorose entre les nervures et des nécroses.
Nickel	Il est essentiel dans de nombreuses enzymes comme les déshydrogénases, les hydrogénases et les éthyléductases.	Présence abondante d'urée toxique qui pourrait s'expliquer par l'inactivation de l'uréase dans la cellule.
Zinc	Intervient dans les réactions enzymatiques, dans le métabolisme de glucides et dans la synthèse des auxines. Il joue un rôle dans le développement des graines..	Raccourcissement des entre-nœuds et des petites feuilles. Elle provoque de sévères chloroses et réduit la photosynthèse.

### **1.3 Conséquences d'excès d'oligoéléments**

A l'inverse des situations de carence en micro-éléments, les plantes peuvent être exposées à des excès de minéraux essentiels. Les concentrations critiques de toxicité pour des teneurs élevées en micro-éléments sont définies comme étant les concentrations qui limitent de 10% minimum la production de masse de matière sèche d'un tissu (Hopkins, 2003). Ces concentrations varient fortement selon les micro-éléments et les espèces végétales. Comme pour les carences, ces excès ont des conséquences cellulaires qui s'intègrent à l'échelle des tissus. Si la plante n'en meurt pas, ces excès, comme les carences, affectent la production de biomasse et donc les rendements (Figure 1a). Les effets à l'échelle des tissus foliaires de concentrations élevées en micro-éléments sont souvent difficilement détectables et ne sont pas associés à des symptômes reconnus comme c'est le cas pour certaines carences (Tableau 2). Par exemple un symptôme classique d'une carence en manganèse, qui survient souvent dans les sols inondés est l'apparition des taches brunes provoquées par le dioxyde de manganèse ( $MnO_2$ ), entourées de nervures chlorotiques (Hopkins, 2003). De plus, ces effets sont compliqués par le fait que des carences peuvent en résulter. Par exemple, un excès en manganèse peut induire des carences en fer, en magnésium et en calcium (Hopkins, 2003). Un effet primaire d'un excès en micro-éléments est un ralentissement immédiat de la croissance des racines parce qu'elles sont les organes principaux de l'acquisition en nutriments (Hopkins, 2003).

## **2 Les éléments non essentiels dans les végétaux**

### **2.1 La classification des éléments non essentiels en éléments traces métalliques et métalloïdes**

Sont communément rassemblés sous le terme générique de « métaux lourds », les éléments ayant une masse volumique supérieure à  $5 \text{ g.cm}^{-3}$ , au numéro atomique élevé pouvant former des sulfures très peu solubles (Adriano, 1986). Ils sont également qualifiés d'éléments traces métalliques car leur liste inclut des métaux (Zn, Cu, Co, Cr, Tl, Hg, Ni, Mo, Pb) et d'autres, qui sont des métalloïdes ou non-métaux sont (As, Se). Certains éléments traces sont nécessaires aux processus biologiques et donc à la production agricole aussi bien animale que végétale : ce sont les oligoéléments (Zn, Cu, Cr, Mo, B, Fe, Mo, Ni, Mn) précédemment évoqués.

Du point de vue biologique, les éléments traces non essentiels comme les Cd, Pb ou Hg n'assurent aucun rôle biologique connu (Pourrut, 2008). Ils présentent, au contraire, une toxicité cellulaire avérée chez les organismes. Ainsi, ces éléments traces sont tous potentiellement toxiques pour les végétaux, en fonction de leur concentration dans un milieu (Loué, 1993) et sont susceptibles de limiter la production de biomasse (Figure 1b). Ainsi, les éléments traces non essentiels ont un seuil de concentration très faible pour devenir toxiques (Pourrut *et al.*, 2008 ; Aranguren, 2008). Les effets cellulaires, à l'échelle d'un tissu et sur la production de biomasse, chez les végétaux, sont décrits plus loin dans ce texte (Tableau 6). Avant de les aborder, nous avons choisi de décrire les processus qui sont à l'origine de la présence d'éléments traces non essentiels dans les sols ainsi que ceux conduisant à l'accumulation d'éléments traces essentiels, à des teneurs potentiellement phytotoxiques.

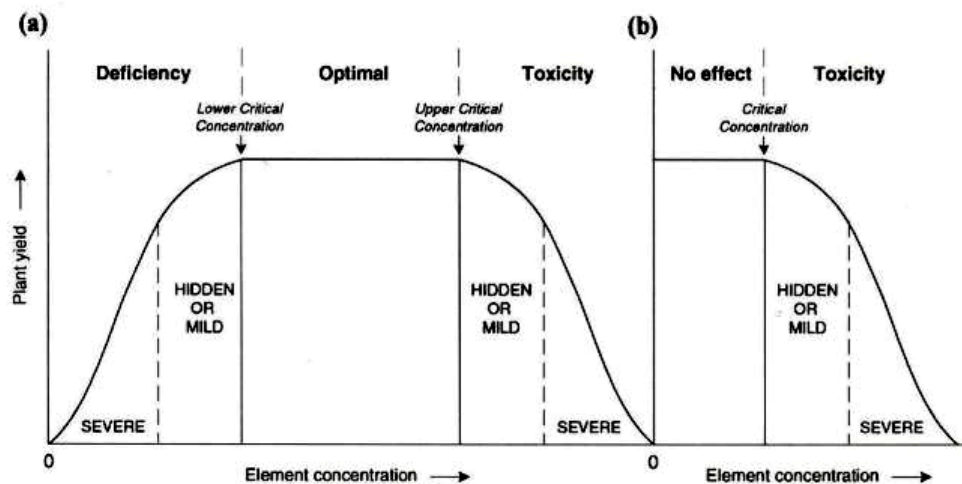


Figure 1 : Courbes doses-réponses typiques (a) des éléments traces essentiels (micronutriments) et (b) des éléments traces non essentiels (Alloway, 1995).

## 2.2 Conséquences d'excès en éléments traces: la contamination

Le sol est un compartiment de l'écosystème possédant de multiples fonctions comme : support pour les organismes et microorganismes vivants, réservoir de matière organique et minérale, lieu de transformations, système épurateur, régulateur des flux et des échanges dans les cycles biogéochimiques (cycle de l'azote, du carbone...) (Gobat *et al.*, 1998).

Tout élément est toxique quand il est absorbé en excès par rapport au besoin physiologique ou à la capacité de régulation de l'organisme. La toxicité des éléments traces pour les micro-

organismes du sol est principalement due à leur capacité à établir des complexes stables avec les protéines ce qui peut altérer les sites actifs ou déplacer des co-facteurs métalliques essentiels (Baath, 1992). Il a été constaté que l'abondance d'éléments traces dans un site diminue la densité, la biodiversité et de l'activité de la microflore et de la microfaune du sol (Bert et Deram, 1999).

L'accumulation des éléments traces dans les sols, l'eau ou l'air, constitue une menace et représente un danger pour l'écosystème et la santé des organismes vivants. Elle peut avoir des conséquences à long terme sur les différentes fonctions du sol (Pereira et Sonnet, 2007):

- Les micro-organismes : ralentissement de leurs activités, diminution de leur diversité et de leurs interactions. Ces micro-organismes jouent un rôle important dans le recyclage biochimique des éléments nutritifs du sol (décomposition de la matière organique) et dans la dégradation de polluants (micropolluants organiques) ;
- Si les concentrations des éléments traces deviennent plus élevées, la fertilité même du sol devient compromise en raison de la toxicité des éléments pour les plantes, la faune et la microfaune du sol ;
- Les sols jouent, vis-à-vis des eaux d'infiltration et de ruissellement, un rôle de filtre épurateur qui est le corollaire de leur capacité de fixer les éléments traces et à les accumuler. La libération des éléments traces et leur entraînement par les eaux de ruissellement ou d'infiltration peut causer une dégradation des milieux aquatiques et réduire la qualité des eaux, qui peuvent devenir impropres à la consommation sans traitements préalables.

Comme l'air et l'eau, le sol est une ressource naturelle essentielle. S'il est pollué, le sol, peut porter atteinte à la vie humaine, en réduisant les récoltes, et, de façon plus insidieuse, en contaminant les aliments et les eaux (Godin, 1983).

Plus encore, la dissémination d'éléments traces constitue un danger aussi bien pour la faune sauvage, le bétail que pour l'homme qui, en effet, se situe en bout de chaîne alimentaire.

Il est prouvé que les animaux peuvent être contaminés par contact avec la peau, par l'absorption à travers les voies respiratoires de poussières toxiques et par consommation de l'eau et d'aliments pollués. C'est ainsi que dans certaines zones très contaminées, le pâturage, les cultures fourragères ou destinées à l'alimentation humaine sont interdites (Bert et Deram, 1999). Les principaux éléments traces qui ont des effets néfastes pour l'homme sont le cadmium (Cd), le mercure (Hg), le plomb (Pb) et l'arsenic (As). Ces éléments peuvent provoquer ou conduire à de graves conséquences sur la santé humaine.

Dans les sols non contaminés, les concentrations des éléments tels que Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn varient entre 0,0001 et 0,065% de la matière sèche. De même, les concentrations des éléments Fer et Manganèse présentent des concentrations comprises entre 0,002 et 10,0% (Ernst, 1974). Généralement, pour les éléments précédemment cités, des concentrations dépassant les 0,1% dans les sols induisent un effet toxique chez les végétaux, mais comme nous le détaillons dans le paragraphe 4 de cette partie, ceci dépend grandement des propriétés du sol (Kabata-Pendias et Pendias, 2001). De plus, chaque espèce présente un seuil de tolérance propre et variable en fonction de l'élément pris en considération (Ernst, 1992). Ainsi, certaines espèces végétales présentent des adaptations aux sols contaminés en éléments traces. Ces espèces font partie des « métallophytes ». La littérature distingue les « métallophytes absolus » qui caractérisent des espèces endémiques de sites métallifères, des espèces dites « pseudo-métallophytes » qui poussent indifféremment sur sols contaminés ou non contaminés.

Plusieurs lignes directrices sur la concentration de métaux peuvent être utilisées pour aider à évaluer les problèmes de toxicité des métaux qui peuvent survenir lors de la phytostabilisation (tableau 3). La première concerne les niveaux de toxicité des plantes du sol, qui peuvent servir de guide pour évaluer la tolérance aux métaux (Kataba-Pendias et Pendias 2001; Mulvey et Elliott 2000; Munshower 1994). La seconde est les limites de toxicité pour les tissus des feuilles des plantes, qui peuvent aider à évaluer le potentiel à long terme d'établissement des plantes. Enfin, les limites de toxicité pour les animaux domestiques peuvent être comparées à l'accumulation de métaux au-dessus du sol, car le bétail et d'autres animaux sauvages, peuvent consommer ces plantes (National Research Council (NRC), 2005).

Tableau 3: Limites de toxicité des métaux (mg/kg), (Mendez and Maier 2008)

<b>Indice de toxicité</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Mn</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
Niveaux de toxicité des plantes <sup>a</sup>	15	3	200	3000	90	100-500	400
Limite de toxicité des feuilles de plantes <sup>b</sup>	5-20	5-30	2-20	400-1000	10-100	30-100	100-400
Limite de toxicité pour les animaux domestiques <sup>c</sup>	30	10	40	2000	100	100	500

<sup>a</sup>: Basé sur les concentrations totales généralement toxiques pour la croissance des plantes (Kataba-Pendias et Pendias, 2001 ; Khalid et Tinsley, 1980 ; Mulvey et Elliott, 2000 ; Munshower, 1994). <sup>b</sup> Basé sur les valeurs moyennes des niveaux toxiques de métaux accumulés dans les cultures (Kataba-Pendias et Pendias, 2001). <sup>c</sup> Basé sur les niveaux maximum tolérables pour les bovins (NRC)

### 3 Origines de la contamination des végétaux par des éléments traces

Les compartiments du sol, de l'air et de l'eau sont des origines possibles à la contamination des végétaux par des éléments traces (Figure 2). L'origine de la pollution de ces compartiments est soit naturelle ou anthropique (Figure 2).

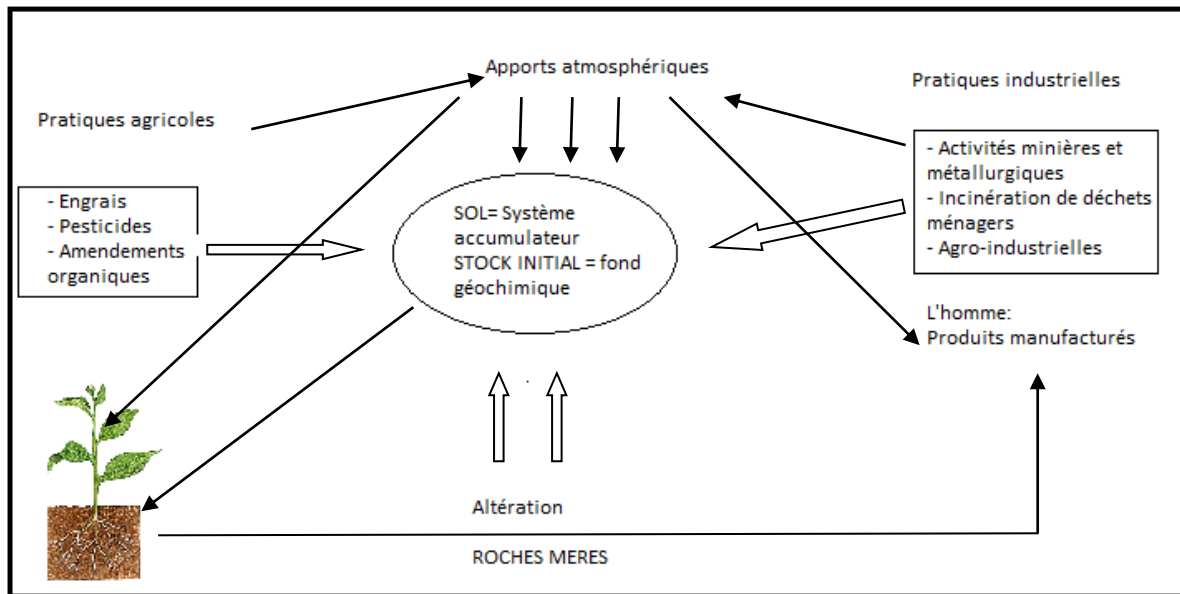


Figure 2 : Les végétaux comme organismes soumis à diverses sources de contamination par des éléments traces non essentiels (d'après Robert et Juste, 1999)

#### 3.1 Origine naturelle des éléments traces dans un sol

La variété élémentaire d'un sol est fonction, d'une part de la nature de la roche et des minéraux qui la constituent et, d'autre part, du type d'altération qu'elle subit lors de la pédogenèse (Pédro et Delmas, 1970). La principale source non anthropique d'éléments traces dans l'environnement est la croûte terrestre qui est formée de 95 % de roches volcaniques et de 5 % de roches sédimentaires (Kabata-Pendias et Pendias, 2011). Les éléments traces sont libérés progressivement lors de l'altération de celles-ci pour constituer le fond géochimique (Bourelrier et Berthelin, 1998). L'altération des roches a pour conséquence de décomposer une roche en libérant des ions solubles et des particules qui vont être mobilisés par l'érosion d'une part ou constituer un dépôt résiduel local d'autre part (<http://coursgeologie.com>). D'autres phénomènes naturels plus brutaux que l'altération des roches sont aussi à l'origine



de pollution : les éruptions volcaniques, les épanchements sous-marins d'hydrocarbures, les sources thermo minérales (Callender, 2014 ; Kabata-Pendias et Pendias, 2011).

### **3.2 Origine anthropique**

Les teneurs les plus élevées en éléments inorganiques rencontrées dans les sols sont fortement liées à l'activité humaine. D'après Singh *et al.*, (2003), au cours des cinq dernières décennies, l'apport de métaux lourds au sol dans le monde s'est élevé à 22000 tonnes de cadmium, 939000 tonnes de cuivre, 783 000 tonnes de plomb, et 1350000 tonnes de zinc.

Les activités essentielles à l'origine des flux des éléments traces, sont liées à l'utilisation et au traitement des minéraux, à la production et à l'usage d'engrais et de pesticides ; elles sont également liées à l'industrie chimique, aux décharges et à l'incinération de déchets ménagers et industriels, ou aux eaux résiduaires agro-industrielles, à la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels) etc...

L'usage du pétrole dans tous les domaines est une importante source de graves pollutions des eaux océaniques et du littoral depuis son extraction jusqu'aux raffineries. Peu d'études sauf celles sur le S, Hg, Ni et le V ont encore été entreprises pour définir les formes les plus gênantes pour les mécanismes de réaction de raffinage et pétrochimie ou toxiques pour l'environnement (Lienemann, 2005). Comme indiqué plus haut, l'agriculture est une cause non négligeable de la pollution des sols et des eaux suite à l'usage des intrants agricoles (engrais chimiques et pesticides), à l'échelle de la planète et donc bien sûr en France (Figure 4).

### **3.3 Sites et sols pollués en France**

En France, comme dans de nombreux autres pays, les sites et sols pollués sont recensés et font l'objet d'un suivi détaillé. Un site est considéré comme pollué par les éléments traces dès lors que dans le sol, le sous-sol ou les eaux souterraines, ont été identifiés des produits altérant ou compromettant leur qualité et leur bon usage à partir de concentrations mesurées ([http://www.paca.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/chap-5\\_cle151692-1.pdf](http://www.paca.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/chap-5_cle151692-1.pdf)).

La pollution locale des sols et des eaux est susceptible de provoquer un danger pour la santé humaine et l'environnement sur ces sites. Le ministère en charge de l'Ecologie a inventorié les sites et sols pollués (Figure 3).

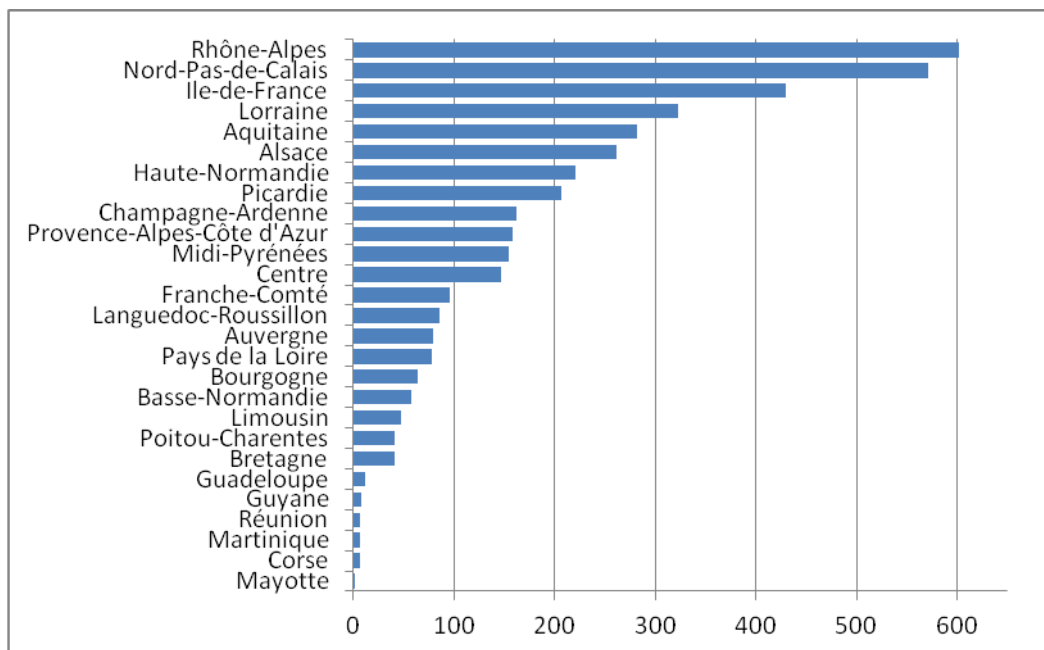


Figure 3: Nombre de sites et sols pollués par région, début 2012 (France).

En France, les sources de contamination des sols agricoles par les métaux lourds ont été identifiées par la société Sogreah à la demande de l'ADEME (Sogreah, 2007) Figure 4 :

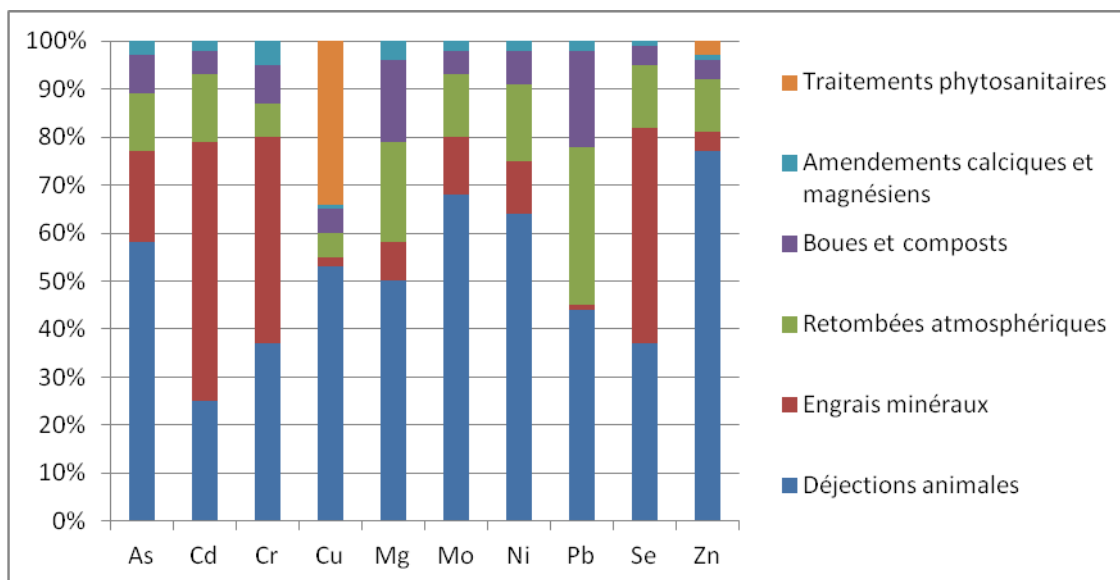


Figure 4: Part des différentes sources de contamination dans l'estimation des quantités totales d'éléments traces entrant sur les sols agricoles en France (Source : Ademe- Sogreah, 2007, 2012).

### 3.4 Déchets et produits dérivés

Deux types de contamination des sols peuvent être distingués, les contaminations locales et les contaminations diffuses.

**Les contaminations locales**, ont des origines très diverses (Ministère de l'Environnement, 1994). Ce type de contamination touche une aire relativement faible et est du à une ou plusieurs sources bien identifiées et souvent très proches (exemple : déversement accidentel, conduit d'émission, dépôt de déchets), tant en cours d'exploitation qu'après fermeture, Pereira et Sonnet (2007). Les déchets miniers et les terrils industriels sont une source particulièrement importante de pollution par le zinc, le plomb et le cadmium (Thi, 2009). Par contre les **contaminations diffuses** sont générées par un apport provenant de sources mobiles (pollution atmosphérique, circulation automobile, pratiques agricole...) et touchant de plus grandes surfaces.

### 3.5 Cas des friches urbaines

En raison du coût élevé des technologies de remédiation, plusieurs sites pollués ont été abandonnés ou mis de côté au lieu d'être recyclés. Aux Etats unis, il existe plus de 500 000 de friches industrielles (Sharon Lafferty Doty and Doty 2008), dont les coûts de nettoyage et de réaménagement sont estimés à plus de 650 millions de dollars (Bressler et Hannah, 2000). Près de 800 000 sites de friches industrielles potentiels ont été identifiés en Europe (Oliver *et al.*, 2005). Selon les rapports officiels européens (European Environment Agency, 2000; Van-Camp *et al.*, 2004), les coûts de nettoyage totaux pour les pays ayant fournis des données étaient estimés à environ 115 milliards d'euros, soit 490 euros / habitant. Selon le registre allemand des sites contaminés, il existe environ 300 000 sites potentiellement contaminés (UBA, 2015). En France, plus de 9000 sites, se retrouvent aujourd'hui à l'état de friches polluées par d'anciennes activités industrielles (European Environment Agency, 2007).

En effet, avec l'augmentation de la population urbaine, la France doit réhabiliter ces anciens sites, devenus une préoccupation majeure pour la société.

Les méthodes de bioremédiation peuvent être appliquées in situ ou ex situ en fonction de la nature des contaminants et des conditions du site. Le traitement in situ est plus attrayant et plus rentable car il ne perturbe pas les activités et n'implique pas l'excavation et le transport de sols contaminés (Megharaj and Naidu 2017).

Les approches in situ couramment utilisées comprennent l'atténuation naturelle, la biostimulation, la bioventilation et la bioaugmentation. En revanche, les approches ex-situ impliquent l'excavation et l'enlèvement de sols contaminés en vue de leur traitement sur le site

ou de leur transport à un endroit approprié avant le traitement. L'utilisation de plantes pour assainir les sites contaminés a été considérée comme une option in-situ rentable par rapport aux méthodes physico-chimiques traditionnelles relativement coûteuses basées sur l'excavation (Megharaj et Naidu 2017).

## **4 Mobilité et biodisponibilité des éléments traces dans un sol**

### **4.1 Mobilité**

La présence des éléments traces dans les sols est un problème majeur notamment du fait de leur mobilité. La mobilité d'un élément est classiquement définie comme étant son aptitude à se déplacer d'un compartiment à l'autre du sol (Baize, 1997). C'est donc plutôt un « potentiel de transfert » (Juste, 1988).

#### **4.1.1 Paramètres physico-chimiques influençant la mobilité (et/ou la biodisponibilité) résultant de facteurs abiotiques et/ou biotiques**

Il existe plusieurs facteurs influençant la mobilité des éléments traces dans les sols. Les plus importants sont le pH, le potentiel redox, le contenu en matière organique, la capacité d'échange cationique, la teneur en argile et l'activité biologique (Colinet, 2003). Le pH, la capacité d'échange cationique (CEC) et le potentiel d'oxydo-réduction (Eh) sont les facteurs liés au sol qui influencent beaucoup notamment le changement de la forme chimique des éléments traces (voir tableau 5).

##### **4.1.1.1 Le pH**

La solubilité d'un élément trace dépend très largement du pH du sol : Un pH faible majore, en général, la mobilité des éléments traces notamment par la mise en solution des sels métalliques. Mais l'augmentation du pH facilite l'immobilisation des éléments traces par la formation de composés insolubles (Du Laing *et al.*, 2007), voir tableau 4. Dans les sols à pH acide, les protons (ions H<sup>+</sup>) ont une plus grande affinité pour les charges négatives des colloïdes du sol. Quant aux métaux, ils sont libres et mobiles. Les colloïdes peuvent complexer des éléments traces. Ainsi, leur dynamique dans les eaux naturelles va influencer celle des métaux traces (Jonge *et al.*, 2004). Quand le pH augmente fortement, la compétition

des éléments traces avec les protons, en nombre inférieur, diminue : les sites de liaison sont occupés par les éléments métalliques et donc immobilisés (Greger, 2004).

#### **4.1.1.2 Le potentiel d'oxydo-réduction (Eh)**

Le potentiel redox est étroitement lié au pH puisqu'il augmente quand celui-ci diminue (Alloway, 1995). Le potentiel redox (Eh) qu'il soit réduit (Eh faible) ou oxydant (Eh élevé), ont un effet sur la solubilité des éléments traces (tableau 4). Ainsi, les formes oxydées prédominent pour un potentiel redox élevé alors que les faibles valeurs d'Eh favorisent l'apparition d'espèces réduites (Chaignon, 2001). Par exemple, en conditions oxydantes, Mn (II) est oxydé en Mn (III) et Mn (IV), lesquels sont présents principalement dans les hydroxydes et oxydes insolubles, diminuant ainsi la mobilité de Mn (Shekar *et al.* 2011 ; Reddy et De Laune, 2008). En conditions réductrices, les mécanismes mis en jeu sont la conversion d'espèces solubles en espèces gazeuses (dénitrification ou méthanisation), la dissolution de composants de la matrice des sols (comme les oxydes de Mn et Fe) et la modification de la spéciation des éléments (Miller *et al.*, 2010).

#### **4.1.1.3 La matière organique**

La matière organique est un mélange complexe de constituants du sol formés d'hydrate de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et, le plus souvent, d'azote. Elle provient essentiellement de l'activité biologique des végétaux et des animaux, comme elle peut être également d'origine anthropique : composts, boues, pesticides, hydrocarbures (Kabata-Pendias et Pendias, 2001). Par leur grande affinité pour la matière organique, les éléments traces peuvent être complexés sous forme de complexes organométalliques. On estime qu'ils sont alors immobilisés, même si la matière organique est largement distribuée dans les sols, les sédiments et les eaux (Kabata-Pendias et Pendias, 2001).

#### **4.1.1.4 La capacité d'échange cationique**

Les éléments traces restent considérablement liés à la fraction argileuse du sol ainsi qu'à d'autres phases minérales comme les oxydes de fer, d'aluminium, de manganèse ou les phosphates, les carbonates, etc. La présence de ces derniers favorise l'immobilisation des métaux lourds, car ils prennent une charge électro-négative qui leur permet de contracter les liaisons réversibles avec surtout, les cations métalliques, qui restent échangeables. Les cations

dissous dans la solution du sol sont attirés par des composants chargés négativement (principalement les argiles, les oxydes de métaux et la matière organique) qui sont les facteurs les plus importants à la CEC du sol (Bargagli, 1998). Plus la CEC du sol est élevée, plus les cations métalliques sont adsorbés ou complexés par ses constituants (matières organiques, argiles et les oxydes) et donc moins mobiles par les plantes (tableau 5).

#### **4.1.1.5 La teneur en argile**

Les argiles, de part leurs propriétés physico-chimiques, immobilisent davantage les polluants que les sols sableux grâce à leur composition minérale (carbonates, oxy-hydroxydes, phyllosilicates...). Li et Li (2000) ont montré que les métaux lourds peuvent être absorbés et immobilisés par les minéraux argileux ou également être complexés par la matière organique du sol en formant alors un complexe organométallique. Les argiles influent beaucoup sur les caractéristiques chimiques des sols, et notamment sur la capacité d'échange ionique grâce à ces charges négatives (Lamy, 2002).

#### **4.1.1.6 L'activité biologique**

La faune d'un sol peut être décrite en considérant les diverses échelles de taille concernées. On parle de macro-, mezo-, microfaunes (Kabata-Pendias, 2004). Parmi les microorganismes, on trouve de nombreuses populations bactériennes et fongiques avec une influence écologique importante par leur implication dans les flux d'énergie, dans les cycles géochimiques dont ceux concernant les éléments traces (Kabata – Pendias, 2004). Par leurs activités métaboliques, ils influencent la mobilité des éléments traces, en jouant sur leur solubilisation, leur insolubilisation et dans certains cas, sur leur volatilisation.

#### **4.1.1.7 La solubilisation**

Ce phénomène découle de la production de composés acides tels que les acides carboxyliques, phénoliques, aliphatiques, nitrique et sulfurique qui forment des complexes avec les éléments traces. Par exemple, l'oxydation par certaines bactéries chimiolithotrophes (*Thiobacillus*, *Leptospirillum*, *Galionella*) des formes réduites du fer et du soufre contenues dans les sulfures, produisent de l'acide sulfurique, susceptible de dissoudre les silicates, les phosphates, les oxydes et les sulfures, libérant ainsi les éléments traces. Les champignons et les racines des plantes génèrent, eux aussi, des acides pour accroître leur pouvoir d'absorption

de nutriments, ou tout simplement comme déchets métaboliques (Foy *et al.*, 1978, Chaignon, 2001). Cette acidification favorise aussi la mobilité des autres éléments qui ne sont pas indispensables pour le métabolisme végétal. Les microorganismes exsudent dans le sol des agents complexant, les sidérophores, composés organiques de faible poids moléculaire, produits par les bactéries et les champignons mais aussi par les plantes. Ces molécules les déplacements des éléments métalliques et un transfert diffusif se fait jusqu'aux plantes lesquelles ils s'accumulent (Chaignon, 2001).

#### **4.1.1.8 L'insolubilisation**

L'insolubilisation correspond au phénomène opposé à la solubilisation. Certains acides organiques de faible poids moléculaire, tels que les acides oxalique, citrique ou fumarique qui interviennent dans la complexation intracellulaire d'éléments nutritifs, peuvent être sécrétés dans le milieu extérieur. Ils limiteraient ainsi les transferts par des processus de complexation (Chen *et al.*, 2003).

#### **4.1.1.9 La volatilisation**

La volatilisation repose sur l'action directe de certains microorganismes sur le degré d'oxydation de l'espèce métallique telles que le mercure, l'arsenic et du sélénium. A la suite de réactions de biométhylation, les trois éléments concernés se trouvent sous des formes chimiques volatiles pouvant quitter le sol pour rejoindre l'atmosphère (Baker et Walker, 1990).

### **4.2 Facteurs climatiques**

Les facteurs externes tels que la température et lumière, ont leurs incidences non seulement sur la croissance des plantes, mais aussi leur prélèvement d'éléments traces.

#### **4.2.1 Température**

Le transfert d'un polluant dans la plante augmente avec la température du sol. Elle joue sur les constantes d'équilibres des réactions qui dirigent la spéciation des éléments traces dans le sol (Paulin, 1995). La température a, par ailleurs un effet sur la physiologie des plantes. Une augmentation de la température par exemple sur les feuilles de la plante provoque un surcroît

de transpiration, puis une augmentation du flux de masse et, dans certains cas, du prélèvement (Anne et Feix, 2005)

#### 4.2.2 Lumière

Le prélèvement d'éléments traces par les plantes tend à augmenter quand la lumière augmente (Prasad et Hagemeyer, 1999).

#### 4.2.3 Humidité

L'humidité intervient indirectement :

- en favorisant l'activité biologique ainsi que la production de substances susceptibles de mobiliser les éléments,
- ou en modifiant le potentiel d'oxydo-réduction du sol
- ou bien en influant sur la profondeur d'enracinement : en périodes sèches, les racines descendent profondément et prélèvent moins d'éléments traces qu'en périodes humides si les éléments sont d'origine anthropique. A l'opposé, le prélèvement est plus important si les éléments ont une origine naturelle (Anne et Feix, 2005).

#### 4.2.4 Les pratiques culturales

Elles peuvent influencer la mobilité des métaux en modifiant les propriétés du sol et les conditions physico-chimiques, à la suite par exemple de l'apport de matière organique (boues chaulées ou non, composts, déjections animales, déchets divers) (Lavado *et al.*, 2001). La nature et le mode d'application des fertilisants, la rotation des cultures et le labour jouent aussi un rôle important.

En ce qui concerne la demande par la plante, elle dépend essentiellement des points suivants (Anne Tremel et Isabelle, 2005) :

**Organe** : les éléments traces sont absorbés dans la plante essentiellement par les racines ; ils y sont stockés et atteignent peu les autres parties de la plante. Ordre décroissant de stockage dans la plante : racines, tiges, feuilles, graines, fruits et tubercules.

**Espèces** : certaines espèces ont tendance à accumuler les éléments traces plus que d'autres. Il semble qu'en général, les légumes contiennent plus d'éléments-traces que les plantes monocotyledones (Bargagli, 1998).










**Variété** : au sein d'une même espèce, la concentration dans la plante varie selon la variété. Pour la laitue par exemple, les variétés suivantes peuvent être classées par ordre décroissant



de leur capacité à accumuler le cadmium : Summer Bibb (8,1mg/kg MS de Cd) > butter head (6,2mg/kg MS de Cd) > Belmay (5,2 mg/kg MS de Cd) > Romaine (1,8mg/kg MS de Cd), (Mench, 1993).

**Age** : En général, les concentrations en éléments traces sont plus élevées chez les jeunes pousses.

Tableau 4: Influence des propriétés du sol sur la mobilité des métaux (Berthelin et Leyval 2000).

Propriétés du sol	Effets fondamentaux	Effets sur la mobilité
pH faible	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diminution de l'adsorption des cations</li> <li>• Augmentation de l'adsorption des anions sur les oxydes de Al, Fe, Mn</li> </ul>	 
pH élevé	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Augmentation de la précipitation des cations sous forme de carbonates et hydroxydes</li> <li>• Augmentation de l'adsorption des anions sur les oxydes métalliques</li> <li>• Augmentation de l'adsorption des cations par des composés humiques</li> <li>• Augmentation de la complexation de certains cations par des ligands solubles.</li> <li>• Diminution de l'adsorption des anions</li> </ul>	 
Potentiel redox (Eh)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diminution de la solubilité à faible Eh sous forme de sulfure, si présence de sulfates</li> <li>• Augmentation de la solubilité des oxydes divalents comparativement aux trivalents</li> </ul>	 
Présence de ligands organiques et minéraux en solution	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Augmentation de la solubilité des métaux</li> </ul>	
Teneurs élevées en argile	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Augmentation de l'échange d'ions pour les cations en traces</li> </ul>	
Présence d'oxydes d'Al, Fe, Mn	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Augmentation de l'adsorption des cations métalliques traces avec l'augmentation du pH.</li> <li>• Augmentation de l'adsorption des anions traces avec la diminution du pH</li> </ul>	

### 4.3 Biodisponibilité en éléments traces d'un sol et transfert des éléments traces vers les tissus végétaux

Ce paramètre qui concerne les systèmes racinaires des plantes, ancrés dans un sol, a été défini par plusieurs auteurs. D'après Juste (1988), la biodisponibilité d'un élément trace métallique est son aptitude à passer d'un compartiment du sol vers un organisme vivant (bactérie, animal, végétal). Pour d'autres, la biodisponibilité se définit comme le degré avec lequel un

contaminant est assimilé par un organisme. Elle est régie par trois processus (Campbell, 1995 ; Hudson, 1998) :

- la diffusion depuis la solution vers la surface de la membrane
- la fixation sur les sites de transport ;
- et l'assimilation dans l'organisme via le passage de la membrane lipidique.

Elle est dépendante de la spéciation ainsi que de tous facteurs et propriétés physico-chimiques qui gouvernent la spéciation et par conséquent de la mobilité mais aussi de l'espèce considérée.

Pour certains, la biodisponibilité en éléments traces dans un sol correspond à la quantité d'ions métalliques libres en solution. Enfin, certains auteurs considèrent qu'elle est la quantité d'éléments traces réellement absorbée par les organismes ou encore la quantité pouvant potentiellement causer un effet (Plette *et al.*, 1999). Quelle que soit la définition retenue, la biodisponibilité est dépendante de la spéciation de l'élément concerné, ainsi que de tous facteurs et propriétés physico-chimiques qui gouvernent cette spéciation, comme le pH, l'Eh et la CEC (tableau 5) et par conséquent de la mobilité de l'élément considéré.

Tableau 5: Principaux facteurs liés au sol et contrôlant le transfert des éléments traces du sol vers le végétal (Leschber *et al.*, 1984).

		Transfert très faible	Transfert faible	Transfert moyen	Transfert élevé	Transfert très élevé
pH	Neutre- alcalin	Cr, Hg, Cu, Ni, Co	Pb, Zn, Cd, Tl, As			Se, Mo
	Acide			Cr, As, Cu, Pb	Zn, Cd, Hg, Co, Ni, Tl	
Eh	Oxydant	Cr	Pb	Cu, Co, Mg, Ni, Zn, Cd, As	Se, Mo	
	Réducteur	Cr, Hg, Cu, Se, Mo, Cd, Pb, As	Ni, Zn, Co			
CEC	Elevé	Cu, Ni, Pb	As, Co, Cr, Tl, Cd, Cd, Mo, Se, Zn			
	Faible				As, Co, Cr, Tl, Cd, Cd, Mo, Se, Zn	Cu, Ni, Pb

Pour conclure, afin d'éviter toute confusion entre les termes (mobilité, biodisponibilité et spéciation), il est nécessaire de les différencier :

**La mobilité** est définie par la capacité d'un élément à migrer d'un point à un autre, à passer d'une forme chimique à une autre ou à changer de phase (passage de la phase solide à la phase liquide principalement) (Juste, 1988). Par contre, la **biodisponibilité** est définie comme la potentialité d'un élément à être absorbé par une plante. Elle est relative à une variété végétale, un stade de développement, des pratiques culturales, au type de sol et à sa profondeur, etc. (Lebourg *et al.* 1996).

Enfin, on considère que la **spéciation** est la caractérisation de la répartition d'un élément dans les différents compartiments du sol ou de l'état chimique dans lequel il se trouve dans ces différents compartiments (ionique, complexé, lié par covalence, etc).

Ainsi, il est admis que la biodisponibilité et la mobilité d'un élément du sol dépend de sa spéciation (Brümmer *et al.*, 1986).

#### 4.3.1 Transferts vers les tissus aériens

La contamination par voie aérienne est généralement faible, sauf lorsque les retombées atmosphériques sont importantes : dans certains lieux comme les zones industrielles ou pour certains éléments comme le Pb, à cause des résidus de combustion de l'essence plombée (Anne et Feix, 2005).

Les particules atmosphériques sont solides ou liquides. Elles résultent essentiellement de composés solides du carbone, des hydrocarbures non brûlés puis de l'usure des pneus et des métaux lourds. Leur taille est donc réduite. Elle les place à une échelle microscopique ([https://www.notre-planete.info/environnement/pollution\\_air/particules-fines.php](https://www.notre-planete.info/environnement/pollution_air/particules-fines.php)).

Les plantes présentant un potentiel de phytoextraction doivent avoir la capacité de stocker des métaux dans leurs cellules et leurs organes. Le processus comprend plusieurs étapes qui impliquent l'absorption de métaux du sol dans les racines, d'où ils sont transférés par différents transporteurs aux parties aériennes de la plante. Une fois transférés vers les organes aériens, ils sont stockés dans les feuilles (Mahmood 2010). Il existe trois processus majeurs par lesquels les plantes accumulent des éléments traces dans leurs organes. Le premier est la biodisponibilité et l'absorption des éléments traces du sol par les racines, le second est la translocation des traces éléments des racines aux parties aériennes par le chargement de xylème, et le troisième est la séquestration des éléments traces dans les feuilles, en particulier dans les vacuoles (Parvaiz Ahmad, 2016). La figure 5 montre le mécanisme par lequel les plantes absorbent et stockent les métaux lourds.

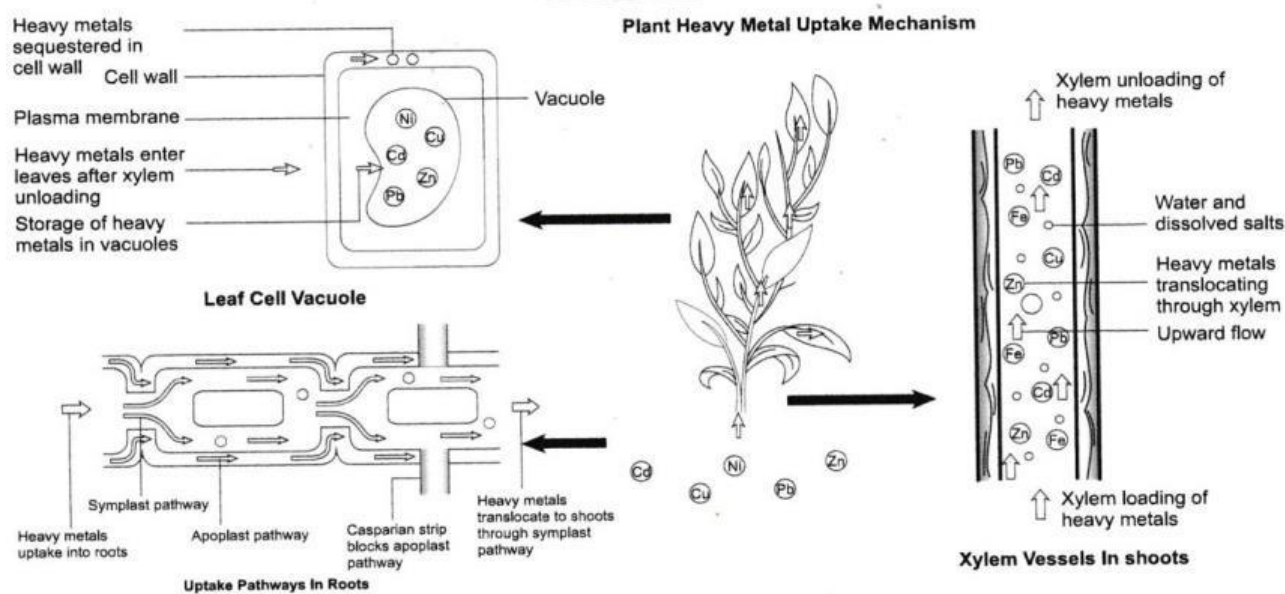


Figure 5 : Les trois processus impliqués dans l'absorption et la séquestration des métaux lourds. En raison de la solubilité accrue, les métaux lourds sont absorbés dans les racines d'où ils sont transférés vers les parties aériennes au moyen de la voie apoplast et symplast. À partir des parties aériennes, les métaux lourds sont transportés vers les feuilles par chargement de xylème. Dans les feuilles, les métaux lourds sont stockés dans des vacuoles (Parvaiz Ahmad, 2016).

### 4.3.2 Transfert vers la rhizosphère

Les éléments traces métalliques de la solution du sol peuvent être transportés vers la rhizosphère qui est la zone du sol la plus proche de la racine, en interaction avec elle. Le transfert des éléments traces vers la rhizosphère se fait par deux étapes : la diffusion et le flux de masse.

Par diffusion, les éléments traces en solution migrent vers la racine où la concentration en éléments traces est plus faible que dans le reste de la solution du sol. Ce transfert se réalise sur de petite distance (0,1 – 15mm) (Barber, 1984 ; Morel, 1985).

Le flux de masse, c'est lorsque la plante a de gros besoins en eau et qu'elle absorbe simultanément l'eau et les solutés. Le prélèvement de l'eau produit une différence de potentiel hydrique entre la rhizosphère et le sol plus lointain, conduisant à des mouvements d'eau, lesquels les mouvements sont accompagnés des éléments solubles, du sol vers la racine (figure 6). Ce transfert des éléments s'exerce sur de longues distances que la diffusion (Anne et Feix, 2005).

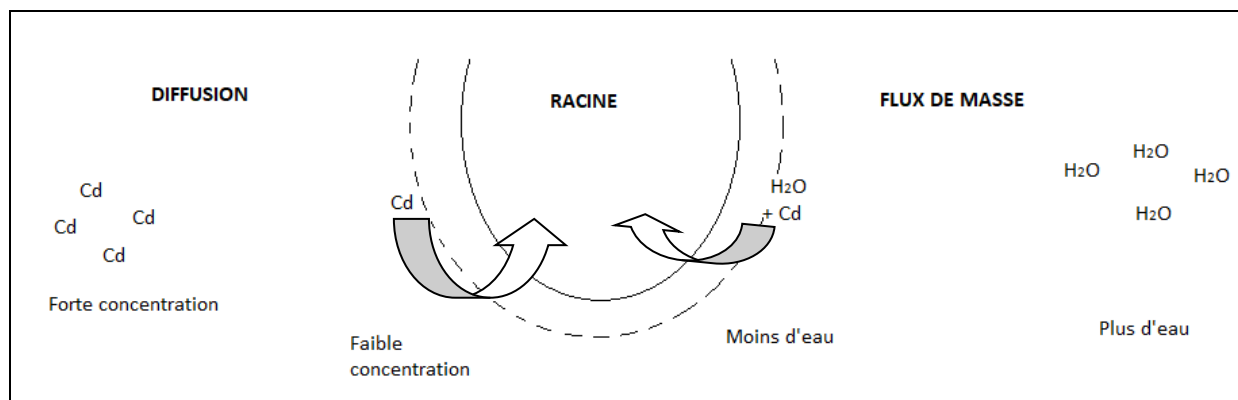


Figure 6: Transport des éléments traces vers la racine, par diffusion et par flux de masse (exemple du Cd), (Tremel-Schaub et Feix, 2005).

## 5 Passage des éléments traces des compartiments sol/air au compartiment plante

Comme décrit plus haut sur la figure 5, les plantes peuvent entrer en contact avec des éléments traces par voie aérienne (on parlera de contamination foliaire par des traces éléments sous forme particulaire ou gazeuse ou encore sous forme dissoute dans les eaux de pluies ou d'irrigation) ou par le sol (contamination racinaire par une solution du sol chargée en traces éléments dissouts). Avant de décrire les effets de ces contaminations par les éléments traces sur le fonctionnement des plantes, il faut rappeler le cheminement des éléments traces et leurs localisations finales, dans les tissus végétaux. Ces dernières correspondent d'une part au milieu extracellulaire ou apoplasme et d'autre part au milieu intracellulaire ou symplasma (figure 7). L'apoplasme est constitué du continuum des parois pecto-cellulosique et des espaces extracellulaires. Dans les racines, il représente 10-15 % du volume. C'est un milieu perméable, ne présentant pas de système de transport sélectif des composés dissouts dans la solution qui le baigne (Anne et Feix, 2005). Le symplasma est le continuum intracellulaire formé par les cellules végétales, reliées entre elles par des plasmodesmes. Ces plasmodesmes sont des structures transmembranaires, reliant deux cytoplasmes jointifs et dont le diamètre avoisine les 50 nm. De part le positionnement respectif de l'apoplasme et du symplasma, il apparaît que le premier des deux à être concerné par les éléments traces est l'apoplasme. Dans ce continuum, les éléments traces en solution suivent de manière passive ou active l'eau par convection (Mombo, 2016).

Pour que ces ions rejoignent le milieu intracellulaire et le système vasculaire xylémien, ils doivent entrer dans le symplasma et donc traverser une ou plusieurs membranes biologiques constituant des barrières sélectives. Lors du mouvement radial des ions dans la racine, le transport transmembranaire des cations présents dans l'apoplasme peut avoir lieu au niveau des cellules de l'épiderme, de l'exoderme, du cylindre cortical et de l'endoderme (Nagahashi *et al.*, 1974).

Dans l'apoplasme, il existe des sites de fixation potentiels pour les éléments traces de la solution. En effet, après pénétration dans l'apoplasme racinaire, une majorité des éléments traces va rester associée à l'extérieur des cellules et dans les espaces intercellulaires car la racine agit comme une barrière (Morel *et al.*, 1994).

Dans le symplasma, qui est un milieu beaucoup plus complexe que l'apoplasme, les sites de fixation intracellulaires des éléments traces sont multiples. Dans les chapitres suivants, il sera question des localisations intracellulaires précises des éléments traces dans les cellules. Dans l'endoderme, les parois cellulaires, imprégnées par des substances hydrophobes, forment la bande de Caspari, barrière apoplasmique qui s'oppose aux mouvements des ions métalliques dans le sens radial : ceux-ci quittent la voie apoplasmique et sont absorbés par les cellules de l'endoderme pour pénétrer dans la stèle où se trouvent les vaisseaux du xylème (figure 7). Dans les racines, s'il y a chargement dans les éléments du xylème, les éléments traces peuvent être transportés par le flux transpiratoire vers les parties aériennes de la plante.

Le transport des métaux lourds des racines aux parties aériennes se fait par le mouvement des métaux dans les vaisseaux du xylème impliqués dans le transport de l'eau et des sels dissous. Les métaux lourds pénètrent dans les canaux xylèmes par le processus connu sous le nom de chargement du xylème. Ce terme s'applique à tous les matériaux qui pénètrent dans les tissus du xylème et doivent être transportés des racines aux feuilles et vice versa. C'est un processus énergivore qui permet seulement aux métaux d'entrer qui suivent la voie symplasmique. En effet, lors du transport normal, la bande casparienne de l'endoderme bloque le mouvement intracellulaire. Par conséquent, les métaux qui se déplacent dans la voie apoplasmique sont bloqués, ce qui signifie que le seul moyen de pénétrer dans les vaisseaux du xylème est de prendre la voie symplasmique (Parvaiz Ahmad, 2016).

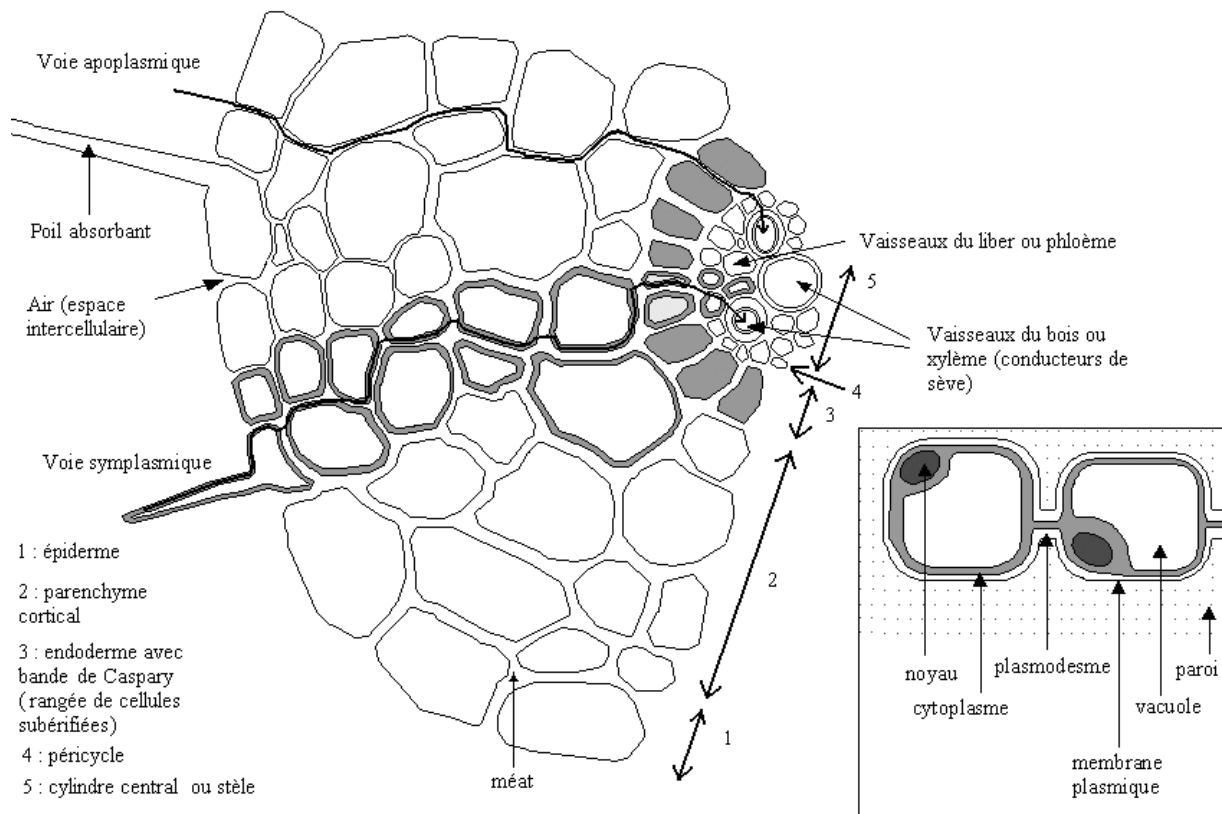


Figure 7 : Coupe transversale d'une racine montrant le transport des éléments traces d'une cellule à l'autre dans le végétal symplasmique et par voie apoplasmiq (d'après Bargagli, 1998, modifié).

## 5.1 Effets des éléments traces sur les différentes échelles d'organisation des végétaux (Tableau 6)

Pour une semence disséminée dans un substrat contaminé par des éléments traces, la germination peut être fortement inhibée et le développement de la plantule et des racinelles, limité. Si une plantule parvient à se développer, les polluants limitent la production de biomasse végétale par inhibition de la croissance des racines et des tiges (Wilkins, 1978) et entraînent l'apparition de nécroses au niveau des racines et des feuilles, ainsi que des chloroses foliaires (Leitao, 2005 ; Pourrut, 2008 ; Greaver *et al.*, 2012). Les effets visibles de la toxicité varient selon les espèces, mais les symptômes les plus communs sont les points chlorotiques ou bruns sur les feuilles, les racines brunes et abimées et au final, pour les cultures, la diminution conséquente des rendements de récolte (Kabata-Pendias et Pendias, 2001 ; Morel, 1997). Ces effets macroscopiques reflètent l'intégration d'effets négatifs sur tous les processus physiologiques végétaux (Woolhouse, 1983). En effet, tous les métabolismes peuvent être affectés : la photosynthèse et la respiration (Singh, 1987 ; Kabata-

Pendias et Pendias, 2001 ; Morel, 1997), le métabolisme hormonal (Barcelo *et al.*, 1986), la régulation du statut hydrique, la nutrition minérale. Les effets toxiques des éléments traces sur les plantes correspondent à une modification fonctionnelle de certaines biomolécules et structures, comme les enzymes dont l'activité est inhibée (Van Assche *et al.*, 1988), comme les membranes dont la perméabilité est perturbée (Vanobberghen 2010). Certains désordres métaboliques correspondent à un stress osmotique dû à l'accumulation d'espèces ioniques dans les cellules (Morel, 1997) ou bien encore au remplacement des ions essentiels par des ions non essentiels de type éléments traces (Kabata-Pendias et Pendias, 2001 ; Morel, 1997). Enfin, l'accumulation d'éléments traces conduit à un déséquilibre rédox et à la génération d'un stress oxydatif aboutissant à l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) conduisant à l'altération oxydative des macromolécules cellulaires (protéines, lipides, acides nucléiques) (Pourrut *et al.*, 2013).

Les plantes se servent de l'oxygène, à travers le métabolisme aérobie, afin d'obtenir l'énergie nécessaire à leur croissance et à leur développement (Scandalios, 1993). Même si les ROS sont formées au cours du métabolisme normal de la plante, l'augmentation de leur concentration intracellulaire est souvent synonyme de stress. En effet, de nombreux stress (par exemple, la sécheresse, la salinité, les éléments traces) sont capables d'induire une production accrue de ROS (Noctor et Foyer, 1998 ; Dat *et al.*, 2000).

Le rôle direct des éléments traces dans la formation des ROS peut être relié à leur capacité à exister sous différents états d'oxydation. En effet, certains cations (comme le fer, le cuivre, le manganèse ou le plomb) peuvent céder un ou plusieurs électrons capables de diminuer l'oxygène et ses dérivés. Cependant, les métaux n'existant que sous un seul état d'oxydation, comme le cadmium et le zinc peuvent induire une accumulation de ROS en perturbant certaines voies métaboliques ou en inactivant des enzymes du système anti-oxydant, contribuant ainsi à l'épuisement de la réserve cellulaire de molécules anti-oxydantes (Sanita di Toppi et Gabbrielli, 1999).



**Tableau 6: Effets des éléments traces sur les végétaux (Chibuike *et al.*, 2014)**

Éléments traces	Plante	Effet toxique sur la plante	Référence
<b>As</b>	1. Riz ( <i>Oryza sativa</i> )	1. Réduction du taux de germination des graines ; diminution de la hauteur des plantules ; réduction de la surface foliaire et de la production de matière sèche.	1. Marin <i>et al.</i> , 1993 ; Joinal Abedin <i>et al.</i> , 2002.
	2. Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	2. Réduction du rendement ; diminution du poids frais des feuilles.	2. Carbonell Barrachina <i>et al.</i> , 1995
<b>Cd</b>	1. Blé ( <i>Triticum sp.</i> )	1. Réduction du taux de germination ; diminution de la teneur en éléments nutritifs des plantes ; longueur des feuilles et racines sont réduites.	1. Yourtchi et bayat, 2013 ; Ahmad <i>et al.</i> , 2012.
	2. Maïs ( <i>Zea mays</i> )	2. Réduction de la croissance de la partie aérienne et racines	2. Min Wang <i>et al.</i> , 2007
<b>Co</b>	1. Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	1. Réduction en éléments nutritifs de la plante	1. Jayakumar <i>et al.</i> , 2013
	2. Radis ( <i>Raphanus sativus</i> )	2. Réduction de la longueur de feuille, de la racine et de la surface foliaire totale, de la teneur en chlorophylle, de la teneur en éléments nutritifs des plantes et l'activité enzymatique antioxydante, de l'acide aminé et de la teneur en protéines des plantes.	2. Jayakumar <i>et al.</i> , 2007
<b>Cr</b>	1. Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	2. diminution de l'acquisition des nutriments dans la plante.	1. Moral <i>et al.</i> , 1995
	2. Oignon ( <i>Allium cepa</i> )	3. Inhibition du processus de germination ; réduction de la biomasse végétale.	2. Nafiseh <i>et al.</i> , 2012
<b>Cu</b>	Haricot ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	Accumulation de Cu dans les racines, malformation et réduction des racines	Cool <i>et al.</i> , 1997
<b>Hg</b>	Tomate ( <i>Lycopersicon Esculentum</i> )	Réduction du taux de germination ; hauteur de plante réduite ; réduction de la floraison et du poids des fruits ; chlorose.	Chandra <i>et al.</i> , 2011
<b>Mn</b>	Tomate ( <i>Lycopersicon Esculentum</i> )	Croissance plus lente ; diminution de la concentration en chlorophylle.	Shenker <i>et al.</i> , 2004
<b>Ni</b>	Raygrass ( <i>Lolium perenne</i> )	Diminution de l'acquisition des nutriments dans la plante ; diminution du rendement des feuilles ; chlorose.	Khalid et Tinslay, 1980
<b>Pb</b>	Maïs ( <i>Zea mays</i> )	Réduction du taux de germination ; biomasse végétale réduite ; diminution de la teneur en protéines	Hussain <i>et al.</i> , 2013
<b>Zn</b>	Raygrass ( <i>Lolium perenne</i> )	Accumulation du Zn dans les feuilles ; croissance réduite ; réduction de la teneur en éléments nutritifs ; réduction de l'efficacité de la photosynthèse.	Bonnet <i>et al.</i> , 2000

## **6 Stratégies de réponse des espèces végétales à la présence d'éléments traces et classification des espèces végétales en fonction de leur capacité de stockage des éléments traces**

En réponse à la présence de polluants inorganiques dans leur environnement, les végétaux ont développé trois principales stratégies : la stratégie d'évitement, la stratégie de tolérance biochimique et la stratégie de détoxification.

### **6.1.1 Stratégie d'évitement**

Les végétaux concernés se protègent des effets toxiques des éléments traces en limitant leur absorption. Ainsi, les végétaux peuvent limiter les entrées de polluants atmosphériques via une régulation de l'ouverture des stomates (Leitao, 2005). Pour les pollutions édaphiques, ils peuvent limiter les flux d'éléments toxiques : (1) en réduisant l'absorption racinaire, (2) en activant des mécanismes d'absorption plus spécifiques (mais plus coûteux d'un point de vue énergétique) ou (3) en activant des mécanismes d'excrétion de ces éléments via des transporteurs spécifiques (Pourrut, 2008). Ces mécanismes impliqués sont l'immobilisation des éléments traces dans les parois racinaires, la formation de complexes via les exsudats racinaires et la formation de barrières redox et/ou de barrières pH au niveau de la membrane plasmique (Baker et Walker, 1990).

### **6.1.2 Stratégie de tolérance biochimique**

On a évoqué plus haut qu'en plus de l'apoplasme, certains compartiments du symplasme constituaient la localisation finale des éléments traces chez certaines espèces végétales. Cette compartimentation limite la mobilité des polluants dans les plantes et donc leur toxicité. Ainsi, les plantes possèderaient un mécanisme de séquestration/ détoxification des éléments traces intracellulaire inductible et correspondant à la synthèse de molécules pouvant chélater les éléments traces (acides aminés, acides organiques, glutathion, phytochélatines, métallothionéines) et assurer leur séquestration dans des compartiments cellulaires spécifiques (vacuoles, vésicules dictyosomales, vésicules du réticulum endoplasmique ou les plasmatubules) (Pourrut, 2008).

A cette stratégie de séquestration qui peut être qualifiée de stratégie d'évitement, s'ajoute, chez certaines espèces, une véritable tolérance biochimique correspondant à la néosynthèse d'enzymes peu affectées par les éléments traces (Baker et Walker, 1990 ; Morel, 1997). Les

deux stratégies décrites ici ont en commun d'être inductibles, c'est-à-dire qu'elles se mettent en place via une modification du transcriptome.

### **6.1.3 Stratégie de détoxification**

Le stress oxydatif étant une conséquence majeure de la présence d'éléments traces dans les tissus végétaux, ces derniers peuvent mettre en œuvre des systèmes complexes de détoxification des espèces réactives de l'oxygène produites :

- Des systèmes non enzymatiques : ascorbate, glutathion, vitamine E, caroténoïdes...
- Des systèmes enzymatiques : superoxyde-dismutases (SOD), catalases, peroxydases, peroxyredoxines...

Les plantes peuvent également éliminer les éléments toxiques de leurs tissus via plusieurs mécanismes comme la volatilisation (pour le Se et Le Hg), l'excrétion racinaire et la séparation de leurs feuilles contaminées (Morel, 1997).

Parmi les végétaux tolérants, on peut distinguer trois grands types différents de comportement vis-à-vis des éléments traces, basés sur les rapports entre les teneurs en polluants du sol et celles des organes aériens des plantes considérées (Baker, 1981) : les espèces qui excluent, les espèces bioindicatrices et les espèces hyperaccumulatrices.

## **6.2 Les espèces qui excluent**

Les espèces qui excluent les éléments traces (ou « excluders ») limitent et maintiennent des niveaux faibles et constants d'éléments traces dans leurs tissus, par régulation du transport depuis les racines, tant que la concentration dans le sol reste relativement plus ou moins élevée. Elles mettent en œuvre pour cela certains mécanismes d'évitement décrits plus haut. Si les teneurs édaphiques en éléments traces sont élevées alors les mécanismes de régulation sont dépassés et une accumulation importante a lieu. Etant donné que ces plantes ne présentent pas de capacités de détoxification ou de tolérance biochimique particulières, l'accumulation d'éléments traces entraîne des dégâts liés à leur toxicité et peut conduire à la mort des individus.

### **6.2.1 Les espèces dites bioindicatrices**

Les espèces végétales bioindicatrices poussent spontanément sur des sols plus ou moins riches en éléments traces. Ne présentant aucun mécanisme efficace pour contrôler la translocation d'éléments traces du sol vers les tissus aériens, les concentrations internes en éléments traces sont en équilibre avec les teneurs du sol et reflètent donc exactement les concentrations externes (Sheoran *et al.*, 2011). Le prélèvement et le transport jusqu'aux feuilles se fait de manière passive. Etant donné qu'elles peuvent être exposées à de fortes teneurs édaphiques en éléments traces, ces plantes présentent des mécanismes de tolérance et de détoxification efficaces.

### **6.2.2 Les espèces hyperaccumulatrices**

Les espèces végétales qualifiées d'hyperaccumulatrices sont des métalphytes ou des bioindicatrices. Elles sont spécifiquement adaptées aux sols riches en métaux lourds dans lesquels elles prospèrent (Bothe, 2011 ; Sheoran *et al.*, 2011).

Dans ces plantes, les éléments traces sont concentrés et accumulés souvent préférentiellement dans les parties aériennes et beaucoup moins dans les parties racinaires, quelle que soit la concentration métallique dans le sol. Elles présentent donc des capacités de translocation des éléments traces des racines vers les parties aériennes efficaces, doublées de capacités de séquestration et de détoxification tout aussi valables. Les espèces métalphytes utilisables en phytoremédiation devraient également être tolérantes aux fortes concentrations d'éléments traces et s'adapter aux stress biotiques et abiotiques, de manière à pouvoir être facilement cultivées et récoltées (Ali *et al.*, 2013). Les espèces capables de concentrer les métaux lourds dans les tissus aériens à des niveaux dépassant de loin ceux présent dans le sol sont appelées hyperaccumulatrices (Memon and Schröder 2009). Ce terme a été proposé pour la première fois par Brooks *et al.*, (1977) pour les plantes pouvant accumuler plus de 1000mg/kg de métaux lourds. Plus tard, Baker et Brooks (1989) déclarent que les plantes capables d'absorber et d'accumuler plus de 100mg/kg de Cd ; 1000mg/kg de Pb, Ni et Cu ; 1000mg/kg de Zn et de Mn en poids sec sont appelés hyperaccumulateurs. Par contre les accumulatrices ou non hyperaccumulatrices sont les espèces végétales qui peuvent accumuler des éléments traces à des concentrations légèrement supérieures à celles du sol et qui présentent des capacités de translocation vers les parties aériennes limitées (Parvaiz, 2016). La figure ci-après (figure 8) montre la différence entre une plante hyperaccumulatrice et une plante non accumulatrice.

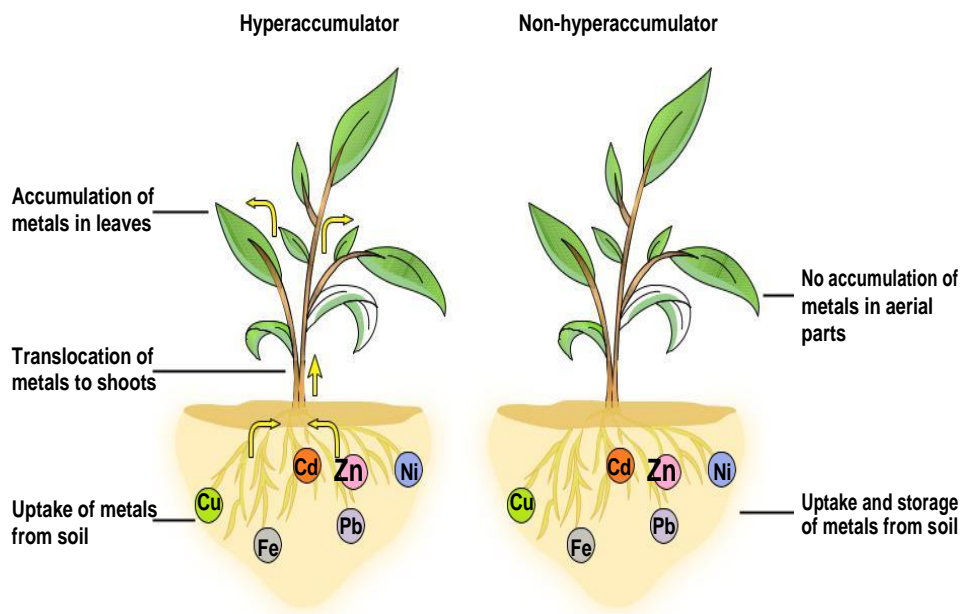


Figure 8 : Cette figure montre la différence entre les plantes hyperaccumultrices et les plantes non accumultrices (Ahmad, 2016). Les hyperaccumultrices permettent le stockage de métaux lourds dans leurs parties aériennes, tandis que les non hyperaccumultrices stockent les métaux lourds dans leurs organes souterrains.

Ces espèces végétales revêtant un intérêt pour les applications en phytoremédiation (voir plus loin), elles sont recherchées et étudiées. Le tableau 8 donne une liste de certaines plantes hyperaccumultrices des métaux et leurs nombres de taxons.

**Tableau 8: Liste de quelques plantes hyperaccumultrices**

Espèces	Métal	Concentration (mg/kg)	Référence
<i>Alyssum bertolonii</i>	Ni	10900	Li <i>et al.</i> , 2003
<i>Alyssum caricum</i>	Ni	12500	Li <i>et al.</i> , 2003
<i>Alyssum corsicum</i>	Ni	18100	Li <i>et al.</i> , 2003
<i>Alyssum heldreichii</i>	Ni	11800	Bani <i>et al.</i> , 2010
<i>Alyssum markgrafii</i>	Ni	19100	Bani <i>et al.</i> , 2010
<i>Alyssum mural</i>	Ni	4730-20100 15000	Bani <i>et al.</i> , 2010 Li <i>et al.</i> , 2003
<i>Alyssum pterocarpum</i>	Ni	13500	Li <i>et al.</i> , 2003
<i>Alyssum serpyllifolium</i>	Ni	10000	Prasad, 2005
<i>Azolla pinnata</i>	Cd	740	Rai, 2008
<i>Berkheya coddii</i>	Ni	18000	Mesjasz-Przybyłowicz <i>et al.</i> , 2004
<i>Corrigiola telephiiifolia</i>	As	2110	(Garcia-Salgado <i>et al.</i> , 2012)

<i>Eleocharis acicularis</i>	Cu	20200	Sakakibara <i>et al.</i> , 2011
	Zn	11200	
	Cd	239	
	As	1470	
<i>Euphorbia cheiradenia</i>	Pb	1138	Chehregani et Malayeri, 2007
<i>Isatis pinnatiloba</i>	Ni	1441	Altinozlu <i>et al.</i> , 2012
<i>Pteris biaurita</i>	As	~ 2000	Srivastava <i>et al.</i> , 2006
<i>Pteris cretica</i>	As	~ 1800	Srivastava <i>et al.</i> , 2006 Zhao <i>et al.</i> , 2002
		2200-3030	
<i>Pteris quadriaurita</i>	As	~ 2900	Srivastava <i>et al.</i> , 2006
<i>Pteris ryukyuensis</i>	As	3647	Srivastava <i>et al.</i> , 2006
<i>Pteris vittata</i>	As	8331	Kalve <i>et al.</i> , 2011 Baldwin et Butcher, 2007 Kalve <i>et al.</i> , 2011
	Cr	~ 1000 20675	
<i>Rorippa globosa</i>	Cd	>100	Wei <i>et al.</i> , 2008
<i>Schima superba</i>	Mn	62412.3	Yang <i>et al.</i> , 2008
<i>Solanum photeinocarpum</i>	Cd	158	Zhang <i>et al.</i> , 2011
<i>Thlaspi caerulescens</i>	Cd	263	Lombi <i>et al.</i> , 2001
Source : (Ali <i>et al.</i> 2013)			

### 6.3 Le classement des espèces potagères

Le classement des espèces végétales entre « exclusives », bioindicatrices et hyperaccumulatrices concerne essentiellement des espèces sauvages, se développant spontanément dans des zones contaminées aux éléments traces. Etant donné la prévalence de ce type de zones en milieu urbain et périurbain, de nombreux essais de culture de plantes potagères ont été réalisés dans des sites contaminés par des éléments traces. Mais ces friches ne sont pas contaminées au même niveau. Les résultats obtenus montrent que les espèces potagères, comme les espèces sauvages, ne sont pas toutes équivalentes en terme de réponse à la présence d'éléments traces. Ainsi, elles ont été classées en fonction de leur capacité d'accumulation (Tableau 9).

Tableau 9 - Classification d'espèces potagères en fonction de leur capacité à l'accumulation d'éléments traces. ADEME, 2014 (d'après Lübben et Sauerbeck, 1991, repris par Versluijs et Otte (RIVM, 2001)

Accumulation	As	Cd	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Elevée	Epinards	Carottes Epinards Tomates	Tomates	Epinards Haricots	Haricots	Carottes Radis Choux frisés Epinards	Tomates Laitues Haricots
Moyenne	Carottes	Radis Choux Laitues Endives Haricots	P. de terre Carottes Laitues Haricots		Carottes Tomates Laitues	Laitues Endives Tomates	
Faible	Pomme de terre	Pomme de terre Betteraves rouges Poireaux Choux frisés	de Choux	P. de terre	P.de terre Choux	P. de terre Betteraves rouges Oignons Poireaux Haricots	P.de terre Carottes Choux

Comme cela est le cas pour les espèces sauvages, certaines espèces potagères présentent des spécificités d'absorption pour certains éléments traces (Tableau 10).

Etant donné que chaque espèce potagère présente des capacités de transfert intra-individu qui lui sont spécifiques, les capacités d'accumulation ont été analysées pour les différents organes (Tableau 10).

Tableau 10. Accumulation d'éléments-traces dans les organes des plantes potagères les plus cultivées en France (Tremel-Schaub and Feix 2005).

Espèce végétale	Organe	Très accumulateur	Moyennement accumulateur	Faiblement accumulateur	Très faiblement accumulateur
Haricot	Grain		Ni	Cd, Pb	Cd, Hg, Pb, Ti, Cr, Se
Tomate	Fruit				Cd, Hg, Pb, Ti, Cr, Se
Pomme de terre	Tubercule		Cr	Cu, Ni	Cd, Se, Pb, Zn
Epinard	Feuille	Cd, Zn	Cr, Hg	Cu	Se, Pb
Poireau	Tige et feuille		Cr	Ni, Zn	Cd, Hg, Pb, Tl, Se
Chou	Pomme	Tl, Cd	Se, As, Hg, Ni	Cr, Cu	Pb
Laitue	Pomme	Cd, Zn	Cu		Se, Cr, Pb

Carotte	Racine	Cd, Cu, Zn	Cr, Hg, Pb, Tl, Se
Oignon	Bulbe	As, Zn	Cd, Cr, Hg, Pb, Tl, Se
Petit pois	Grain	Ni	Cd, Cr, Hg, Pb, Tl, Se

## **7 La mise en œuvre des capacités d'accumulation des éléments traces par les plantes à des fins remédiatrices : la phytoremédiation**

### **7.1 Définition de la phytoremédiation**

La phytoremédiation est définie comme l'utilisation de plantes pour extraire les polluants inorganiques et aussi pour transformer les polluants inorganiques (Salt *et al.*, 1998). Elle est ainsi une technique de réhabilitation environnementale qui utilise des capacités des plantes pour éliminer, contenir ou rendre moins toxiques les polluants.

En fonction des mécanismes racinaires décrits plus haut et qui permettent d'immobiliser les éléments traces dans les racines ou bien au contraire de stimuler leur transfert vers les parties aériennes, plusieurs techniques de phytoremédiation ont été développées : la phytostabilisation, la phytovolatilisation, la phytodégradation et la phytoextraction (Figure 9). Elles apparaissent souvent comme des méthodes alternatives ou des méthodes complémentaires aux méthodes conventionnelles de remédiation des sites contaminés, moins coûteuses et plus respectueuses de l'environnement (Kirpichtchikova, 2009).



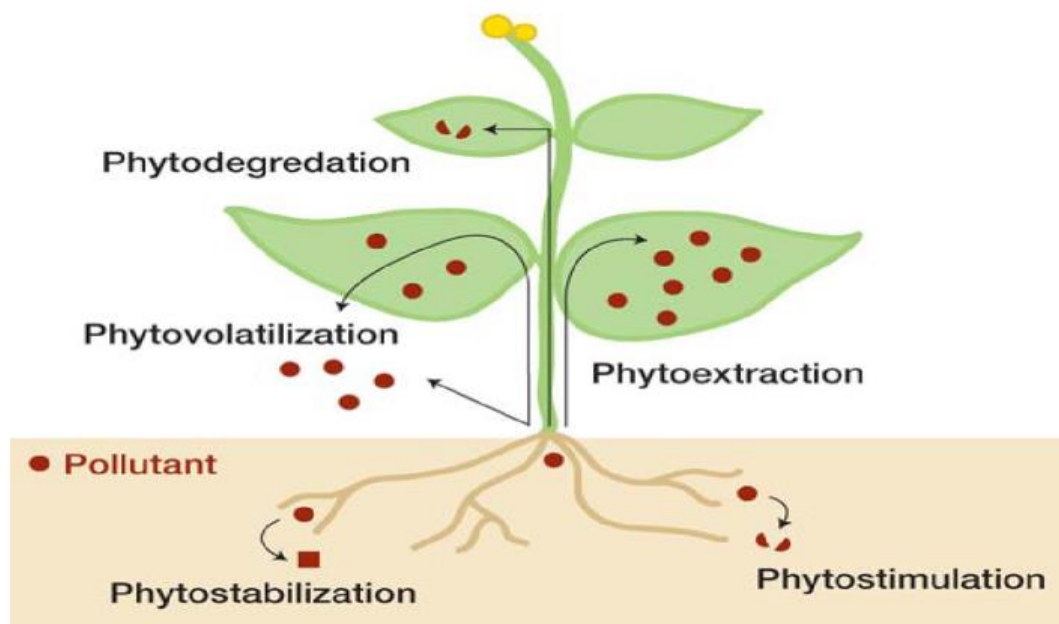


Figure 9: Les principales techniques de phytoremédiation (Pilon-Smits, 2005).

### 7.1.1 Phytostabilisation

La phytostabilisation est l'utilisation de plantes pour réduire la mobilité des polluants édaphiques. Cette technique permet de limiter leur dispersion dans les eaux de surface et souterraines (Scott D Cunningham *et al.* 1995) par les pluies et leur dispersion éolienne (Pilon-Smits, 2005 ; Remon 2006). Ceci est rendu possible par immobilisation des composés polluants par précipitation, adsorption dans la rhizosphère et dans une moindre mesure par accumulation absolument limitée au système racinaire. Etant donné que les polluants demeurent dans le sol, la phytostabilisation peut être envisagée comme une stratégie de gestion à court terme des contaminants potentiellement toxiques (Vangronsveld *et al.* 2009).

### 7.1.2 Phytodégradation

C'est l'utilisation de plantes qui absorbent par les racines des contaminants organiques et autres produits xénobiotiques, et les transforment en composés peu ou pas toxiques par l'action d'enzymes extraracinaires (exsudats) (Criquet *et al.*, 2000 ; Pilon-Smits, 2005). Les enzymes les plus fréquents impliquées dans la biodégradation sont des déhalogénases, laccases, peroxyases, nitrilases, nitroréductases (Surarla *et al.*, 2002 ; Gerhardt *et al.*, 2009). La phytodégradation à proprement parler ne dépend pas des microorganismes associés à la

rhizosphère, comme dans le cas de la rhizodégradation traité plus loin (Vishnoi and Srivastava 2008). La phytodégradation concerne uniquement les polluants organiques seulement parce que les éléments traces sont non biodégradables, mis à part les exceptions du mercure et du sélénium (Sharon L Doty *et al.*, 2007). Pour ces éléments, il existe chez certaines espèces végétales des possibilités de phytovolatilisation.

### **7.1.3 Phytovolatilisation**

C'est l'utilisation de plantes qui absorbent par les racines des contaminants organiques et autres produits xénobiotiques, et les transforment en composés volatiles (peu ou pas toxiques) et qui sont relargués dans l'atmosphère à partir des feuilles (McGrath, 1998). Pour les éléments comme le sélénium ou le mercure qui deviennent volatils une fois méthylés, il est possible de transformer une plante pour lui faire exprimer une méthylase, qui permettra la dispersion de la pollution par volatilisation ( Souza *et al.*, 1998 ; McGrath, 1998 ; Michaille, 2014 ). Toutefois, l'utilisation de la phytovolatilisation est limitée par le fait qu'elle ne supprime pas totalement le polluant ; ce dernier est transféré d'un compartiment (sol) à un autre (atmosphère) à partir duquel il peut redevenir une source de contamination. Et c'est pour cette raison que la phytovolatilisation est controversée en tant que technologie de phytoremédiation (Padmavathiamma and Li 2007); McGrath, 1998).

### **7.1.4 Rhizodegradation**

La rhizodégradation implique la transformation des contaminants organiques en substances moins toxiques, dans la rhizosphère (et non plus dans la plante) puis leur dégradation par les communautés microbiennes. Cependant, ces processus peuvent être grandement facilités par l'excrétion de molécules organiques végétales soutenant ces communautés. Elle s'étendrait sur environ 1 mm autour de la racine et est donc directement sous l'influence de la plante (Pilon-Smits, 2005). La rhizodégradation correspond à la dégradation des polluants organiques dans la plante elle-même ou grâce aux microbes associés aux plantes dans leur rhizosphère ou dans leurs racines (mycorhizes, endophytes bactériens) (Mukhopadhyay et Maiti, 2010).

### **7.1.5 La phytoextraction**

La phytoextraction est la technique emblématique de la phytoremédiation. C'est la technique qui met en jeu des espèces hyperaccumulatrices et dont l'objectif est de faire passer les éléments traces du compartiment sol vers le compartiment « biomasse végétale aérienne ». Cette dernière peut être récoltée et traitée de manière à confiner les éléments traces recueillis. L'efficacité de la phytoextraction dépend de nombreux facteurs tels que la biodisponibilité des métaux dans le sol, les propriétés du sol, la spéciation des métaux et des espèces végétales concernées. Les plantes adaptées à la phytoextraction doivent être hyperaccumulatrices et devraient idéalement présenter les caractéristiques suivantes (Adesodun *et al.*, 2010; Mejáre and Bülow 2001; Sakakibara *et al.*, 2011; Tong *et al.*, 2004):

1. taux de croissance élevé,
2. forte production de biomasse aérienne,
3. système racinaire largement développé,
5. translocation efficace des éléments traces accumulés à partir de racines vers les parties aériennes,
6. tolérance élevée aux effets toxiques des métaux lourds cibles, par des mécanismes de détoxification et de séquestration efficaces,
7. bonne adaptation aux conditions environnementales et climatiques existantes,
8. bonne résistance aux agents pathogènes et ravageurs,
9. facilité de culture et de récolte des parties aériennes,
10. répulsion des herbivores pour éviter la contamination de la chaîne alimentaire.

La phytoextraction est la technique qui a le plus bénéficié des efforts des chercheurs au cours de cette décennie. Elle est très prometteuse pour des applications commerciales de dépollution des métaux lourds et métalloïdes à partir de sols, de sédiments ou d'eau contaminés aux éléments traces (Sun *et al.*, 2011). C'est le cas par exemple des phytomines. Les phytomines sont des installations visant à générer des revenus en récupérant des quantités commercialisables de métaux à partir de biomasse végétale (bio-minerai) utilisée pour extraire des métaux précieux de sols contaminés ou minéralisés (Brooks *et al.*, 1998). Après récolte et incinération de la biomasse végétale récoltée, il est envisageable d'extraire et de recycler dans l'industrie les métaux. En parallèle, il serait possible de valoriser l'énergie produite lors de la combustion des plantes (Anderson *et al.*, 1999). On estime que ce type de procédé pourrait être rentable pour certains métaux présentant un intérêt économique, comme le nickel, le thallium et les métaux précieux (Bert et Deram, 1999 ; Dechamps et Meerts, 2003 ; ADEME, 2010).

## 7.2 Avantages et limites de la phytoextraction

### 7.2.1 Les avantages

En comparaison avec les méthodes de remédiation non biologique par traitements physico-chimiques, tels que l'excavation du sol et le lavage du sol, la phytoextraction apparaît comme une méthode douce avec peu de désagréments visuels ou sonores associés. De plus, cette technique préserve l'activité biologique et la structure du sol. Mieux, elle peut être à l'origine d'une amélioration de la fertilité des sols (Vishnoi and Srivastava 2008). De fait, généralement bien apprécié par le public que les techniques classiques, la phytoextraction convient parfaitement à la démarche de développement durable (Dechamp et Meerts, 2003 ; ADEME, 2010).

L'aspect financier joue aussi en faveur de la phytoextraction par rapport aux méthodes classiques. En effet, le coût de la phytoremediation est estimé 10 à 100 fois moins élevé que la mise en œuvre des techniques classiques de remédiation (Bert et Deram, 1999). Aux États-Unis par exemple, la commission de l'énergie atomique estime que le coût de dépollution par phytoextraction, pour un demi-hectare de terre contaminée au plomb sur une profondeur de 50 centimètres, se situe entre 60 000 \$ et 100 000 \$, tandis que l'excavation du même volume s'élèverait entre 400 000 \$ et 700 000 \$ (Cunningham and Ow 1996).

Plus récemment, (Chen and Li 2018) ont effectué une analyse générale de la rentabilité de différents modes de traitements de métaux lourds dans le sol, à partir d'informations de la littérature (figure 10). L'indicateur déterminant pour la sélection est le rapport (C / E) entre le Coût par m<sup>3</sup> (coût en \$ par m<sup>3</sup>) et l'Efficacité de la réduction des métaux lourds dans le sol (efficacité en pourcentage). Les meilleurs traitements de chaque scénario sont sélectionnés par la valeur du rapport coût-efficacité (ratio C / E); les résultats sont présentés sur la figure 10. Les scénarios représentent la surface d'un site : scénarios 1,3, 7, 9, 11 et 15 présentent des sites de petites surfaces et 2, 10 et 14 représentent des sites de grandes surfaces.

Selon les résultats de Chen and Li (2018), figure ci-dessous, la phytoextraction fonctionne mieux dans les scénarios 1, 2, 9, 10 et 14, indiquant que la phytoextraction est plus efficace dans les sols à faible niveau de contamination.

En général, par rapport aux traitements physico-chimiques, tels que l'excavation du sol et le lavage du sol, la phytoextraction a un coût moindre pour la contamination par les métaux lourds du sol. Mais la phytoextraction ne semble rentable que pour les sites légèrement

contaminés. Tandis que l'excavation du sol et le lavage du sol ont l'avantage de traiter des sols fortement contaminés ou une contamination profonde de la couche de sol. La combinaison des traitements physico-chimiques et de la phytoremédiation pourrait être l'alternative potentielle pour traiter le métal lourd du sol de manière rentable à l'avenir.

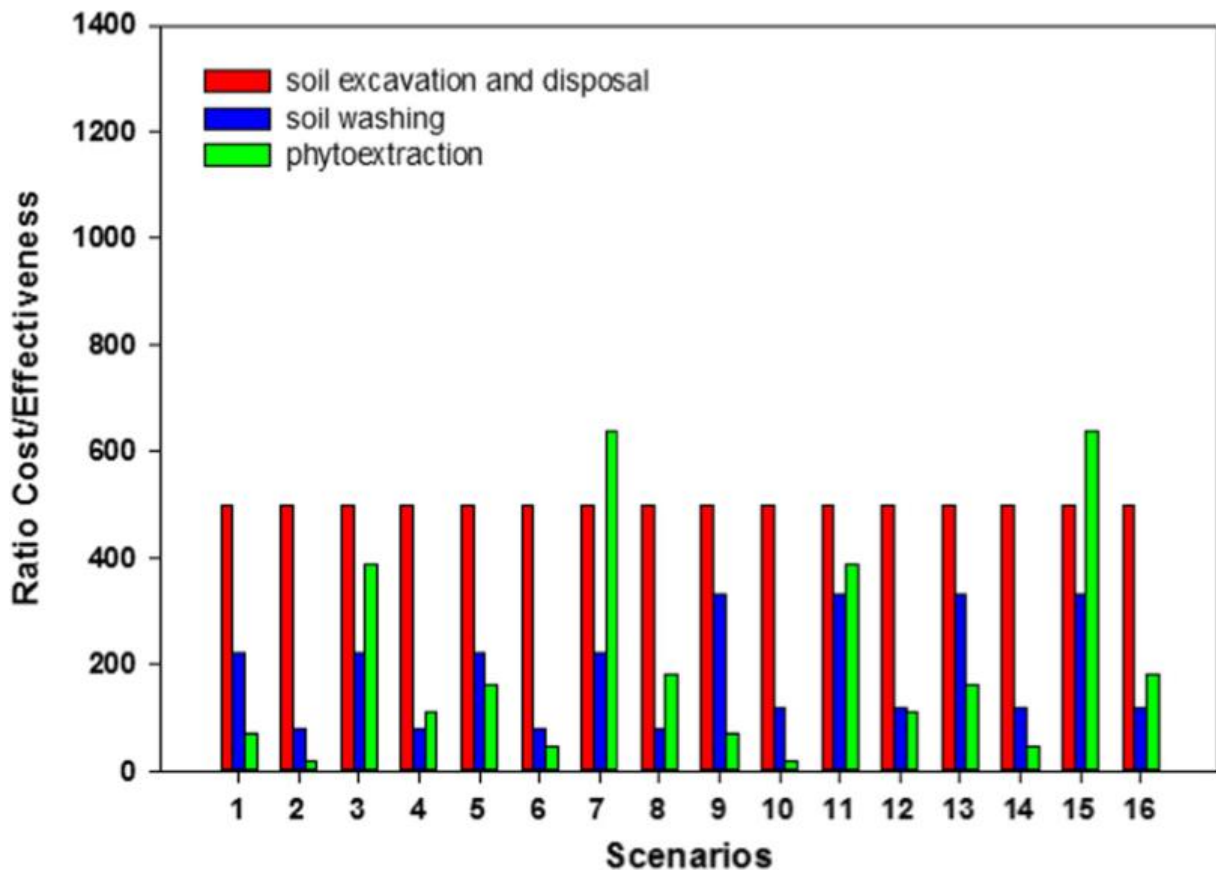


Figure 10: Comparaison des rapports coûts/efficacité pour différentes stratégies de dépollution de sites contaminés aux éléments traces (excavation du sol et stockage en centre spécialisé, lavage du sol, phytoextraction) menées sur une dizaine d'années et en fonction de différents scénarios (d'après Chen et Li, 2018).

## 7.2.2 Limites

Une première limite à l'application de phytoextraction vient d'être mise à jour : le problème des concentrations élevées en éléments traces pouvant être toxique pour les plantes. Celle-ci n'est pas unique, comme le montre la liste qui suit :

- Quelle que soit la phytotechnologie envisagée, elle s'adresse aux polluants qui se trouvent dans la hauteur de sol (ou d'eau) colonisé par les racines (en moyenne jusqu'à 50 cm de profondeur),

- Les plantes interagissent avec la fraction biodisponible d'éléments traces, fraction qui peut être minime par rapport aux teneurs totales,
- Les quantités transférées du compartiment sol (eau) vers les plantes, par cycle de culture, sont faibles.

Ainsi, cette technique biologique présente-t-elle ses limites, celles qui sont propres à la physiologie des végétaux. De fait, le principal obstacle au développement de la phytoremédiation, et plus particulièrement de la phytoextraction, comme technologie de dépollution reste la durée de traitement : la phytoremédiation demande, en effet, des durées de traitement relativement longues et variables en fonction des caractéristiques du sol, de la nature des métaux considérés, du niveau de la pollution, des espèces végétales utilisées et des usages présents et futurs du site considéré (ADEME 2012).

Pour atteindre une concentration voulue d'un métal dans le sol sur une certaine profondeur, une certaine quantité de ce métal doit être extraite, selon la formule de Van *et al.*, (2007) :

$$A = V_B d_B C_v \quad (1)$$

Où  $A$  est la quantité de métal à extraire par hectare (mg/ha),  $V_B$  le volume du sol (m<sup>3</sup>/ha),  $d_B$  la densité du sol (kg/m<sup>3</sup>) et  $C_v$  la concentration voulue (mg/kg).

Etant donné que la quantité totale de métaux extraite est le produit de la biomasse de la plante avec la concentration en métal dans les tissus, le temps nécessaire pour atteindre la concentration en métal voulu est calculé par (Van *et al.*, 2007) :

$$t = A/PB \quad (2)$$

Où  $t$  est le temps (année),  $P$  la concentration en métaux dans les plantes (mg/kg) et  $B$  la production en biomasse annuelle (kg poids sec/ha/année).  $P$  et  $B$  sont spatialement et temporellement dépendant des caractéristiques du sol et de la biodisponibilité des métaux.

Ces mêmes auteurs ont démontré avec ces relations théoriques que pour diminuer la concentration en Cd d'un sol de 1 mg/kg sur 0,5 m de profondeur, il faudrait retirer 8 kg de Cd par hectare. En supposant que la production de biomasse et la concentration extraite par les plantes sont toujours constantes, réduire à 1 mg/kg la concentration en Cd dans des sols légèrement pollués demanderait une période de 15 ans.

Habituellement, la période de phytoextraction pour un site contaminé est de 3 à 5 ans. Mais cela pourrait aussi durer plus de 25 ans (Robinson *et al.*, 2015).

## 7.3 Une solution à ces limitations

### 7.3.1 La phytoextraction aidée

La phytoextraction aidée (ou assistée) peut constituer une alternative ou un complément aux traitements physico-chimiques des sols contaminés par les métaux lourds. Il existe deux stratégies de phytoextraction aidée, la phytoextraction assistée ou induite et la phytoextraction continue (Salt *et al.*, 1998 ; Cooper *et al.*, 1999). Parmi ces deux procédés la phytoextraction assistée est la plus développée. La seconde commence à être appliquée pour la dépollution des métaux lourds (Zinc, Cadmium, nickel) et des métalloïdes (Sélénium, Arsenic).

### 7.3.2 Phytoextraction assistée ou induite

La phytoextraction induite se fait en présence de chélateurs et de plantes à forte biomasse et à croissance rapide. La phytoextraction assistée est basée sur deux principes : (I) augmenter l'accumulation du métal dans la solution du sol par l'ajout des accélérateurs ou de chélateurs dans la solution du sol, (II) augmenter l'absorption et le transport de ce métal vers la partie aérienne de la plante (figure 11), qui est plus facile à récolter. L'augmentation de la concentration du métal dans la solution du sol peut s'expliquer par la forte affinité du chélateur utilisé. Les chélateurs des métaux lourds comme EDTA (Ethylène diamine tétraacétique) et EDDS (ethylene diamine disuccinate) pour le plomb, et EGTA (ethylene glyco-O,O' -bis-[2-amino-ethyl]-N,N,N',N',-tetra acetic acid) pour le cadmium, sont connus pour améliorer la phytoextraction par l'augmentation de la biodisponibilité et de l'accumulation des métaux lourds (Cooper *et al.*, 1999 ; (Meers *et al.*, 2005 ; (Tandy *et al.*, 2006 ; Shen *et al.*, 2002).

En matière de phytoremédiation induite, de nombreux résultats ont été publiés sur différentes espèces végétales et types de pollution. Par exemple, (Karczewska *et al.*, 2009) ont testé les effets d'EDTA, EDDS et l'Histidine sur l'absorption de Cu, Pb Zn et Fe par le maïs et la moutarde brune à partir des sols limoneux pollués par les émissions de la fonderie de cuivre. Ils montrèrent que l'application de 1 mmol / kg d'EDTA et d'EDDS a significativement augmenté l'absorption de Cu et de Pb par rapport aux parcelles témoins alors que le même dosage d'histidine n'a pas affecté l'absorption de ces métaux par les plantes.

D'autres travaux récents par Lee and Sung (2014) ont étudié les effets des agents chélateurs (EDTA, EDDS et Acide humique HA) sur quatre plantes herbacées, *Brassica juncea*, *Brassica campestris*, *Sorghum bicolor*, et *Helianthus annuus* dans un sol contaminé avec PbCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub>, CdCl<sub>2</sub>, NiSO<sub>4</sub> et ZnSO<sub>4</sub>. Les résultats ont montré que tous les chélateurs utilisés, à l'exception des acides humiques, ont augmenté le facteur de bioconcentration

racinaire (BCFr) de tous les métaux et de toutes les plantes. Les acides humiques ont diminué le BCFr de *Brassica juncea* pour le Cd, le Cu, le Pb et le Zn et ont eu les effets les moins significatifs des chélates utilisés dans l'étude. L'addition d'EDDS a augmenté le facteur de bioconcentration de la partie aérienne (BCFs) de toutes les plantes et de tous les métaux, sauf dans le cas du Cd pour *Helianthus annuus*. Les acides humiques ont réduit le BCFs de *B. juncea* (Cd et Pb) et de *B. campestris* et *H. annuus* (Cd).

Une variété d'agents chélatants a été utilisée par Blaylock *et al.*, (1997) comme le citrate, le CDTA, le DTPA, l'EDTA, l'EGTA et une efficacité beaucoup plus grande de l'EDTA a été observée dans la solubilisation du Pb et l'amélioration de son absorption chez *B. juncea* par rapport à d'autres métaux. Kayser *et al.*, (2000) ont utilisé le NTA (Nitrilotriacetic acid) pour améliorer le potentiel de phytoextraction de *B. juncea* et autres plantes pour l'absorption des métaux dans des études sur le terrain. Quartacci *et al.*, (2005) ont étudié l'effet de l'application de citrate et de NTA (Nitrilotriacetic acid) sur l'absorption de Cd chez *B. juncea*. Le NTA s'est avéré beaucoup plus efficace que le citrate pour améliorer l'absorption du Cd et semblait être un agent complexant plus puissant. Ils ont observé que l'application de citrate peut être bénéfique dans un sol plus fortement pollué en raison d'une moindre tendance au lessivage. Il a été découvert que l'amélioration de la phytoextraction par inoculation avec des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) peut être obtenue par plusieurs mécanismes : (1) une meilleure croissance des plantes et une meilleure production de biomasse (Burd *et al.* 2000 ; Li *et al.* 2007), probablement en fournissant du P biodisponible pour l'absorption par les plantes, en fixant le N pour l'utilisation par les plantes, en séquestrant le fer (Fe) pour les plantes par les sidérophores, en produisant des hormones végétales et en abaissant les niveaux d'éthylène des plantes (Glick *et al.* 1999) ; (2) une tolérance accrue des plantes aux métaux; et (3) des concentrations plus élevées de métaux dans les tissus végétaux (Zaidi *et al.* 2006; Jiang *et al.* 2008; Xiong *et al.* 2008; Khan *et al.* 2009). Di Gregorio *et al.*, (2006) ont étudié l'effet de l'application d'EDTA sur l'absorption de Pb chez *B. juncea* en présence d'une souche autochtone de PGPR (*Sinorhizobium* sp.) et d'un surfactant. Une meilleure performance de *B. juncea* a été observée pour tolérer le stress et une production de biomasse plus élevée a été observée avec la phytoextraction.



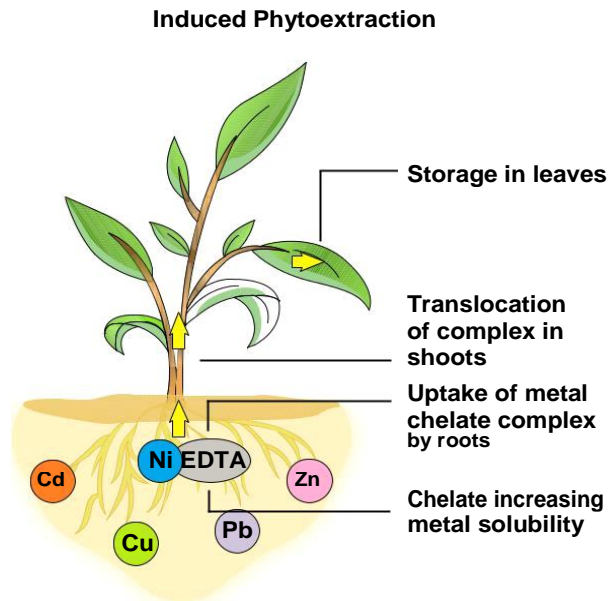


Figure 11. Le processus de phytoextraction induite en présence de chélateurs. Les chélateurs ont tendance à augmenter la biodisponibilité des métaux lourds dans le sol, ensuite aux parties aériennes de la plante (Parvaiz, 2016).

## **8 De la phytoextraction par complémentarité fonctionnelle d'associations culturales à la phytoextraction combinée à la production potagère**

Les stratégies classiques de phytoremédiation par extraction, que celle-ci soit aidées ou non, obligent à mettre en « jachère » les parcelles concernées puisqu'aucune utilisation du sol n'est prévue pendant la durée du traitement qui, on l'a vu, peut être très long. Une solution pour diminuer cette durée pourrait être d'associer des espèces végétales aux fonctions complémentaires, dont certaines pourraient être des espèces potagères. Cette stratégie pourrait être celle du « se nourrir tout en dépolluant ».

Les travaux scientifiques sur l'impact d'associations végétales sur la mobilité des éléments traces entre les différents compartiments sol, eau, plantes restent encore très rares et sont souvent contradictoires. En 1994, Schwartz a montré que certaines plantes hyperaccumulatrices se développent mieux seules qu'en présence d'autres espèces, et que les associations pratiquées ont diminué systématiquement l'efficacité de la phytoextraction (Schwartz, 1997). Pareillement, Wang *et al.* (2013) qui ont étudié une co-culture de *Sedum alfredii* (une espèce hyperaccumulatrice de Zn et Cd) et *Lolium perenne* ou *Ricinus communis* dans un sol co-contaminé avec le Cd, le Pb et le Zn, ont pu montrer que l'association avec le

*Ricinus communis* a entraîné une diminution de la biomasse aérienne de *S. alfredii* par rapport à la culture seule. Aussi, la concentration en cadmium dans les organes aériens *S. alfredii* a diminué de façon significative lorsque l'espèce est cultivée en association, par rapport à celle obtenue en monoculture. Cela peut être dû au taux de croissance élevé des plantes potagères, qui occupent l'espace vital de l'hyperaccumulateur et rivalisent pour une grande quantité de nutriments du sol en système de co-culture, limitant alors la croissance de plantes accumulatrices (Luyao *et al.*, 2020).

Mais plus récemment, Yang *et al.*, (2017) ont étudié le rôle d'associations végétales et d'application de chitosane qui est un agent chélateur biodégradable et non toxique (Lin *et al.*, 2017), dans la phytoextraction d'arsenic et de métaux sur la fougère *Pteris vittata* L., une espèce exceptionnellement résistante à l'arsenic et le *Ricinus communis* L. Leurs résultats ont révélé que les concentrations d'As et de Pb de *P. vittata* étaient près de 10 fois et 2 fois supérieures à celles de *R. communis* dans le système co-plantation. Ils ont aussi montré que l'association des deux espèces peut efficacement éliminer l'As et le Pb du sol par *P. vittata* et éliminer simultanément le Cd par *R. communis*.

Un nombre très réduit d'études porte sur des associations végétales incluant une espèce cultivée à des fins alimentaires : le maïs (*Zea mays*, une espèce faiblement accumulatrice).

Une expérience de terrain d'association entre l'hyperaccumulatrice *S. alfredii* et le maïs a été menée par Wu *et al.*, (2007) afin d'évaluer les impacts d'un mélange de chélateurs MC (composé de liquide résiduaire de glutamate monosodique (MGWL), d'acide citrique et d'EDTA) sur la croissance et la phytoextraction de métaux lourds. Les résultats ont montré que les prélèvements de Cd et de Zn par *S. alfredii* étaient 10 fois supérieurs à ceux du maïs et l'absorption du Pb par le maïs était 1,5 fois supérieure à celle de *S. alfredii*. Wu *et al.*, (2007) ont également constaté que l'absorption totale de Cd et Zn dans la co-plantation était supérieure à celle de monoculture de maïs et monoculture de *S. alfredii*.

Selvam and Wong (2009) ont étudié le potentiel d'absorption du cadmium en associant le *Brassica napus* avec le *Brassica para chinensis* et le maïs. Ils ont prouvé que lorsque le *B. napus* est cultivé avec *Brassica para chinensis* ou du maïs, la concentration en Cd et l'accumulation dans la partie aérienne étaient significativement plus élevées ( $p < 0,05\%$ ).

Wang *et al.*, (2013) rapportent que les effets de l'association des cultures (hyperaccumulatrice et faible accumulatrice) sur la croissance et l'accumulation de métaux

dépendent des types de métaux et des interactions entre les deux espèces végétales coexistantes.

Les interactions entre des espèces végétales, est une pratique courante agronomique dans de nombreux pays (Olowe et Adeyemo, 2009; Temperton *et al.*, 2007). Elles peuvent affecter la phytoextraction des métaux du sol car la coexistence de plusieurs espèces végétales peut modifier les microorganismes rhizosphériques et microenvironnement abiotique, et peuvent donc affecter le métal biodisponible dans le sol de la rhizosphère (Khan, 2005; Yang *et al.*, 2007). Dans les systèmes de culture, les légumineuses sont souvent incluses dans la rotation en raison de leur capacité à fixer l'azote (Karpenstein-Machan et Stuelpnagel, 2000; van Kessel et Hartley, 2000). Les légumineuses sont également d'excellentes cultures partenaires dans les systèmes de cultures intercalaires, car les légumineuses peuvent fournir de l'azote et induire une acidification du sol et augmenter ainsi la biodisponibilité du Phosphore et d'autres éléments immobiles (Jensen et Hauggaard-Nielsen, 2003; Noble *et al.*, 2008).

Liu *et al.*, (2011) ont expérimenté la coexistence des plantes pour améliorer la phytoextraction du cadmium par le tabac (*Nicotiana tabacum*) et une légumineuse (le trèfle japonais). Leurs expériences ont montré que les concentrations de Cd dans les feuilles et racines du tabac étaient accrues lorsque le tabac était associé avec le trèfle japonais. Ils ont constaté que la coexistence a également réduit le pH du sol et provoque l'augmentation de la biodisponibilité du sol en Cd. Le trèfle japonais a également accumulé une importante quantité de Cd dans ses racines et feuilles. Ainsi, l'absorption totale de Cd par les deux espèces était beaucoup plus importante en association qu'en culture seule.

La co-culture a été largement utilisée dans la production agricole, ce qui améliore l'utilisation efficace de la lumière, la fertilité du sol et l'espace pour les plantes, et a montré une grande contribution à l'agriculture moderne et durable (Gong *et al.*, 2001 ; Lu *et al.*, 2017). Les co-cultures pourraient avoir un impact sur la communauté bactérienne et la diversité du sol de la rhizosphère (Chen *et al.*, 2018 ; Xu *et al.*, 2015). La co-culture de cultures de rente à faible accumulation avec des plantes hyperaccumulatrices est une approche de remédiation économiquement et écologiquement rationnelle pour maintenir la production agricole et la rentabilité pendant le processus de phytoremédiation (Liu *et al.*, 2015). *Solanum nigrum* L. est une plante à croissance rapide avec une biomasse élevée même dans des conditions environnementales stressantes (Cheng *et al.*, 2016 ; Wei *et al.*, 2016). Tang *et al.* (2017) ont rapporté que la co-culture d'une culture légumière avec *Solanum nigrum* L. réduisait efficacement l'accumulation de Cd dans les parties aériennes d'aubergines. Cependant,

certaines résultats de recherche montrent des résultats opposés. Li *et al.* (2009) ont observé que la co-culture du maïs avec le pois chiche améliorait l'absorption de Cd par le maïs. Wiche *et al.* (2016) ont démontré que les concentrations de Fe, Pb étaient plus élevées dans les tissus d'*Avena sativa* cultivés en co-culture avec *Lupinus albus* que dans ceux en monoculture. Luyao *et al.*, (2020) ont rapporté que la concentration de Cd de *S. alfredii* était de 27,3 mg/kg en monoculture et elle a augmenté à 51,2 mg/kg après co-culture avec du chou-fleur, suggérant que le système co-culture a favorisé l'absorption de Cd. La raison en est peut-être que les exsudats racinaires de *S. alfredii* ont modifié l'état chimique du Cd dans le sol et par là favorisé son absorption par le chou-fleur (Yang *et al.*, 2006). Un autre mécanisme possible est que le système de co-culture produit plus d'acides organiques (Chen *et al.*, 2003 ; An *et al.*, 2011). Jiang *et al.* (2009) ont co-cultivé *S. alfredii* avec différentes plantes dans une expérience en pot, et les résultats ont révélé que la co-culture avec du maïs et du soja augmentait l'absorption de Zn par les parties aériennes de *S. alfredii*, et que la co-culture diminuait l'absorption de Cd et de Zn par les feuilles de maïs et de ray-grass.

Dans une étude de Wang *et al.* (2021), la co-culture de moutarde indienne et de maïs a inhibé la croissance de la moutarde indienne, probablement en raison d'une compétitivité moindre de la moutarde indienne pour les ressources environnementales (par exemple, l'eau, les nutriments et la lumière). Le pH est le facteur ayant la plus forte influence sur la mobilité des éléments traces métalliques (Bargagli, 1998). Ainsi, en présence de métaux lourds, le pH du sol de la rhizosphère et la biodisponibilité des métaux lourds de deux plantes de co-culture ont été affectés par les sécrétions racinaires, affectant ainsi l'absorption et la croissance des métaux lourds (Agnello *et al.*, 2014).

Du point de vue de la physiologie végétale, la co-culture pourrait atténuer les effets néfastes. Ces résultats contradictoires s'accordent sur un point : les effets des co-cultures dépendaient de nombreux facteurs, tels que les espèces végétales, les systèmes de co-culture, le type de sol, la concentration de métaux lourds dans les sols et les conditions de croissance, entre autres (Luyao *et al.*, 2020). Ces facteurs affectent par la suite la biodisponibilité des nutriments, la morphologie et la physiologie des racines et les micro-organismes de la rhizosphère (Xiao *et al.*, 2005 ; Wang *et al.*, 2011).

# **Partie 2**

## **Matériels et méthodes**

## **Introduction**

Ce chapitre présente les dispositifs expérimentaux et les techniques utilisées pour caractériser les végétaux et les sols. Les résultats sont présentés dans la partie suivante.

Plusieurs espèces ont été utilisées en vue d'étudier le développement et la croissance des plantes ainsi que l'accumulation des éléments traces tels que Cd, Cu, Pb, et Zn dans ses organes végétatifs. La première expérimentation a été réalisée en plein champ sur le site de La Pierre Fitte (Avenue du Front de Seine, 94290 -Villeneuve le Roi) pendant une durée de cinq mois (Mai - Septembre 2015). La seconde a été conduite en conditions contrôlées (pots) à l'Université Paris Est Créteil pendant une durée de trois mois (juillet-septembre 2016).

Toutes les analyses ont été déroulées au Laboratoire de l'Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement de Paris (IEES ; Université Paris Est Créteil) et au laboratoire de l'Institut Francilien Ingénierie (Université Paris Est Marne la Vallée).

### **1 Description du site d'études**

Situé sur la commune de Villeneuve-le-Roi (94290), avenue du Front de Seine, dans les darses de la Carrelle en bordure de Seine et au cœur d'un espace urbain en mutation, le site de la Pierre-Fitte est une friche d'une superficie d'environ 8 hectares. Ce dernier est localisé à proximité de quartiers d'habitat social et résidentiel (Quartier Paul Bert en rénovation et Quartier Parc en Seine en construction) et au sein d'une zone d'activité industrielle (Fig. 12). Le site est caractérisé par une forte influence anthropique : sable grossier, très caillouteux (graviers, cailloux, pierres) et à nombreux débris (verre, brique, débris de démolition. Le site de La Pierre-Fitte a été acquis par le Département du Val-de-Marne le 1er janvier 1996.

A partir de 2010, le terrain à l'état de friche naturelle, a subi de nombreux dépôts sauvages de déchets et de gravats. Suite à ces actions, le Conseil Départemental du Val-de-Marne (CD94) a décidé de revaloriser cette friche enclavée en le transformant en un site d'expérimentation de la participation des habitants à la création et à l'animation d'un espace naturel (CD94 2013a). Les objectifs assignés aux Espaces Naturels Sensibles (ENS) par l'Assemblée des Départements de France sont de « préserver la qualité des sites, des paysages, des milieux naturels (...) et d'assurer la sauvegarde des habitats naturels ». De plus, ces espaces ont vocation « à être ouverts au public, sauf exception justifiée par la fragilité du milieu naturel » (Charte des ENS 2006).

Des études préliminaires agro-pédologiques (CD94 2013c) et des risques sanitaires (EQRS CD94 2013b) ont permis d'identifier deux grandes zones au sein des 8 hectares de friches.

- Une première zone, d'une superficie de 6 hectares (partie Sud du site) présentait des milieux naturels d'intérêt et une compatibilité sanitaire avec l'ouverture de cet espace naturel au public. Cette zone a été confiée à la Ferme du Parc des Meuniers qui a mis en place dès 2013 un accueil du public, des actions pédagogiques et de communication, des opérations de nettoyage, de débroussaillage, de plantation et la création d'une parcelle potagère de 4000 m<sup>2</sup>.
- Une seconde zone au nord, d'une superficie plus faible (2 hectares), a été déclarée non accessible au public en raison de la contamination des sols par des éléments traces parmi lesquels on retrouve majoritairement le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le plomb (Pb), et le zinc (Zn).

En 2013, le projet PICRI ReFUJ (Reconversion d'une Friche Urbaine en Jardin) associant le CD94 et l'Université Paris-Est Créteil (U-PEC) a été soumis au Conseil Régional d'Île-de-France. Ce projet vise à expérimenter de nouvelles approches en recourant à certaines espèces végétales pour le traitement des sols contaminés par les éléments traces, et la reconversion des friches urbaines polluées, en prenant en considération les potentialités de développement d'une agriculture urbaine. Ce projet a permis la mise en place d'une expérimentation en champ des six parcelles pendant cinq mois (Fig. 12 et 14) et d'une expérimentation en mésocosmes (Fig. 19), à l'université Paris Est Créteil pendant trois mois.

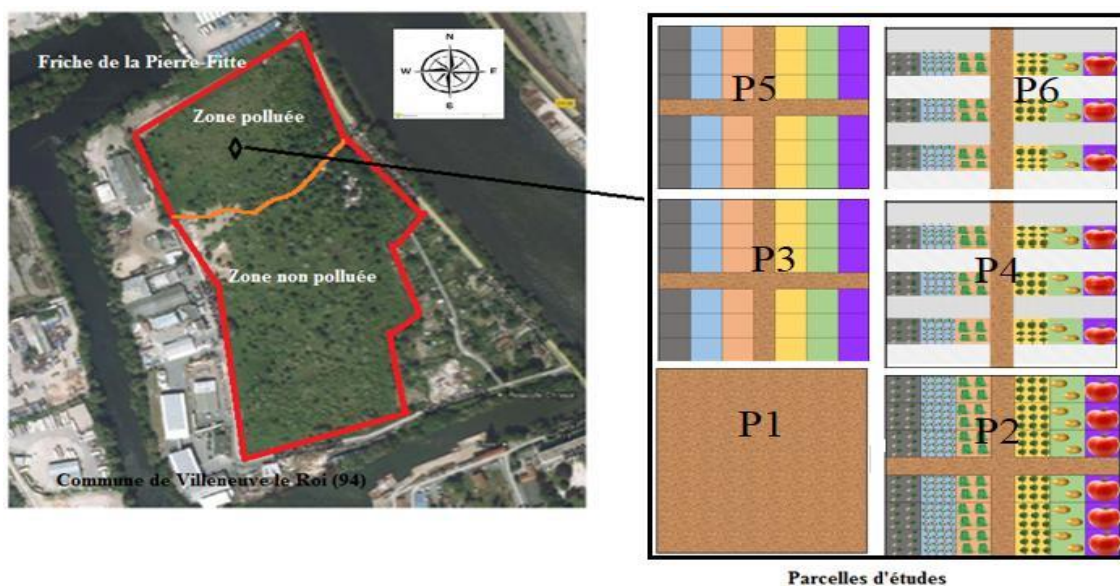


Figure 12 : Géolocalisation et plan des parcelles du site d'études sur l'espace naturel de Pierre-Fitte situé à Villeneuve-le-Roi (Île de France). Les coordonnées GPS du site sont N 48°44' 29,014 et E°26'14,292".

## 1.1 Techniques d'analyse du sol de la friche (Expérimentation 1)

Une évaluation agro-pédologique a été réalisée par le cabinet Sols Paysage entre octobre 2012 et février 2013 sur la friche de La Pierre Fitte. Pour la campagne d'investigation, le site a été virtuellement découpé en 21 mailles, dont chacune a fait l'objet d'une caractérisation de la qualité des sols superficiels. Sur les 11 mailles qui composent le reste du site, 4 d'entre elles (11, 12, 16 et 20) ne présentent aucun impact en métaux sur matériaux brut.

Sur la figure 13, en terme de pollution, les quelques points de sondage réalisés ont montré que certains secteurs étaient impactés. Ils ont constaté une pollution généralisée et intense en plomb (440mg/kg) au Nord et d'autres métaux qui sont présents de façon significative tels que le mercure (1,2mg/kg), le cuivre (490mg/kg) et le zinc (490mg/kg). Par conséquent, les mailles 1 à 8 et la maille 19 ne sont pas compatibles avec un usage dédié au potager / maraichage. Au sud, une pollution en hydrocarbures a été repérée. Après l'évaluation quantitative des risques sanitaires (EQRS), les mailles M4 à M6 sont les plus touchées qui ne sont pas compatibles en l'état. Sur la partie nord les plantes ont été cultivées sur la maille 3, une zone non arborée, fortement remaniée. La maille 3 a été choisie pour les expérimentations de phytoremédiation car les analyses préliminaires du rapport de l'EQRS ont montré une pollution en éléments traces, notamment en cuivre, zinc, plomb et cadmium.

Sur les six parcelles cultivées : (P1) sol nu, (2) plantes potagères (racines/feuilles/fruits), (3) plantes phytostabilisatrices, (4) plantes potagères - plantes phytostabilisatrices, (5) plantes phytoextractrices et (6) plantes potagères - plantes phytoextractrices ; trois échantillons de sols par parcelle ont été prélevés à la tarière à deux profondeurs : 0-10 cm et 20-30 cm. Les échantillonnages réalisés sur chacune des parcelles ont été poolés formant des échantillons composites. Les échantillons de sol ont été mis à sécher à l'air libre pendant une semaine, puis ont été tamisés à 2 mm avec un tamis en inox. Cette fraction à 2 mm est de nouveau broyée pour pouvoir réaliser les minéralisations totales.

Les paramètres physicochimiques et microbiologiques du sol : pH (H<sub>2</sub>O, KCl), mesure du calcaire total, mesure de la matière organique, détermination de la Capacité d'Echange Cationique (CEC), mesure de la granulométrie et détermination de la quantité totale des éléments traces dans les échantillons de sol ont été réalisés au Laboratoire d'Analyse des Sols de l'université Paris Est Créteil.



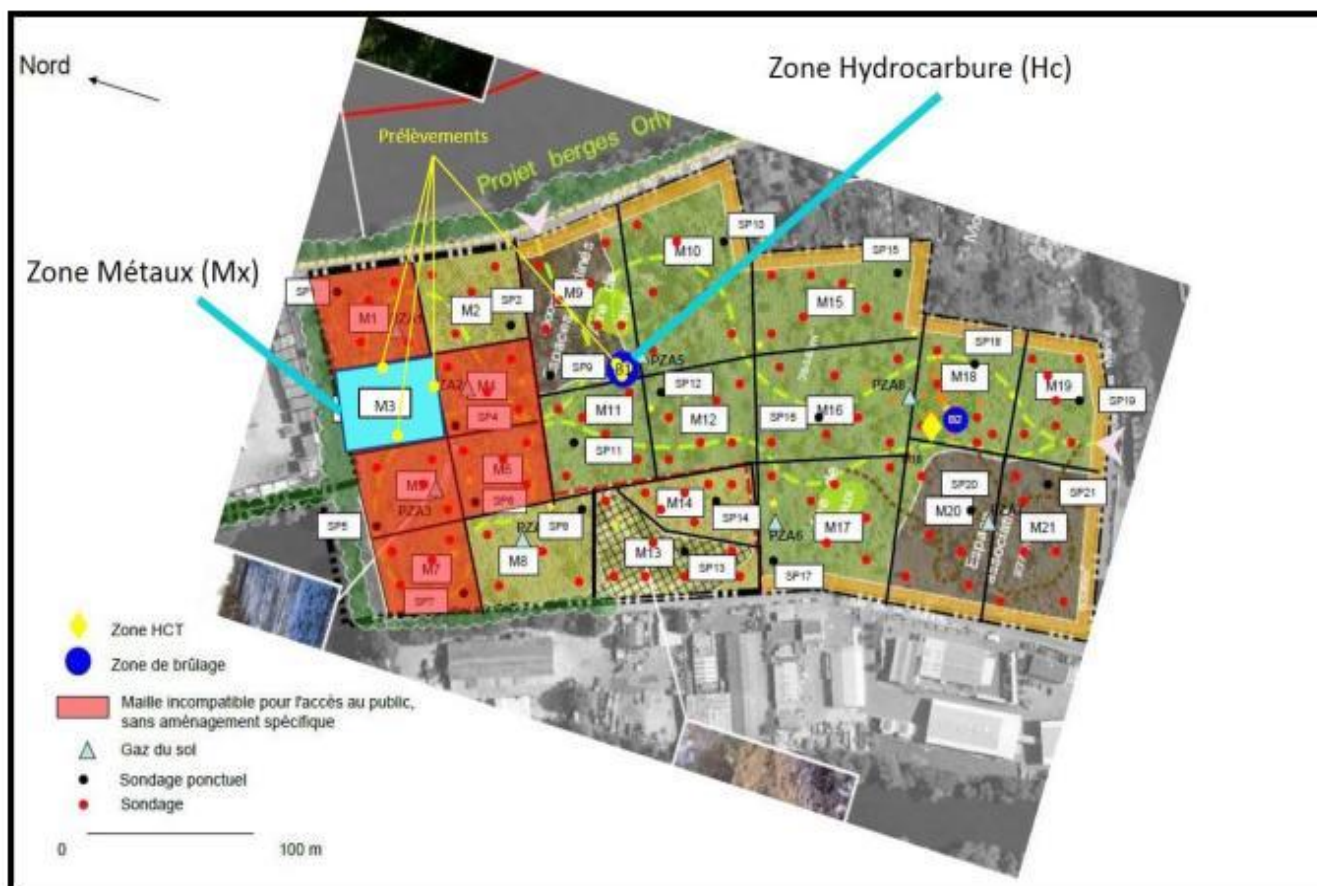


Figure 13. Cartographie des mailles incompatibles pour la fréquentation du public d'après le rapport de l'EQRS du site de La Pierre-Fitte (Guitard, 2013).

## 1.2 Propriétés physico-chimiques des sols

### 1.2.1 Détermination de la quantité totale des éléments traces dans le sol

Dans le but de limiter la contamination métallique lors des manipulations, avant toute minéralisation, les contenants ont été rincés à l'aide d'une solution d' $\text{HNO}_3$  à 10 % pendant une nuit, puis rincés 3 fois à l'eau ultra pure avant d'être séchés sous hotte.

La minéralisation des échantillons des sols a été faite par le système DigiPrep® (SCP Science), dans des tubes de 50 mL en téflon avec ajouts successifs de 2 mL d' $\text{HNO}_3$  à 65 % (10 N) et 2 mL d' $\text{H}_2\text{O}_2$  sur 50 mg d'échantillon de terre broyé. Les échantillons ont été placés pendant 30 mn dans un bain à ultrasons puis ensuite chauffés pendant 24 h à 110 °C. Après évaporation à 90 °C pendant 6 h, 10 gouttes d'acide fluorhydrique et 2 ml d' $\text{HNO}_3$  65 % ont été ajoutés dans les tubes. Les échantillons ont été replacés pendant 30 mn dans un bain à

ultrasons puis chauffés pendant 24 h à 110°C. Après évaporation de l'eau à 90 °C pendant 4 h, 2 ml d'HCl (12 N) ont été ajoutés dans les tubes. Les tubes ont été ensuite remis à chauffer pendant 24 h à 110 °C. Après évaporation à 90 °C pendant 4 h, 20 mL d'HNO<sub>3</sub> à 5 % ont été rajoutés. Les échantillons ont été replacés pendant 30 mn dans un bain à ultrasons puis ont été analysés par ICP-OES (Spectroblue).

### **1.2.2 Détermination du pH eau et pH KCl**

Dix grammes de sol tamisé et broyé ont été placés dans des tubes de centrifugation contenant 25 mL d'eau distillée ou de KCl 1 M et mis à agiter pendant une demi-heure. Le pH eau et le pH KCl ont été réalisés selon la norme ISO NF X 31-107. Un aliquot de 2 g de terre fine des sols a été mis dans 5 ml d'eau distillée, mis à agiter pendant une demi-heure. Le même protocole a été appliqué avec du KCl 1 M. Le pH a ensuite été mesuré à l'aide d'un pH mètre (appareil 744 pHmeter, Metrohm).

### **1.2.3 Mesure du calcaire total**

Le calcaire total a été dosé avec un calcimètre de Bernard selon la norme internationale NF ISO 10693 qui est la détermination de la teneur en carbonate par la méthode volumétrique. Le principe repose sur la mesure du volume de CO<sub>2</sub> dégagé après attaque des carbonates par un acide fort (acide chlorhydrique), sachant que ce volume de CO<sub>2</sub> émis est proportionnel à la quantité de calcaire présent dans l'échantillon. Un premier dosage témoin a été réalisé sur une quantité connue de CaCO<sub>3</sub> (0,1 g) pour calibrer la technique. L'échantillon a été introduit dans l'erenmeyer avant d'y placer un tube à hémolyse contenant 5 ml d'HCl (1 N) pour 0,5g de sol. Après fermeture du dispositif et repérage du niveau d'eau salée dans la colonne graduée, l'erenmeyer a été renversé pour mettre en contact l'échantillon et l'acide. Le dégagement de CO<sub>2</sub> produit alors un déplacement de l'index dans la colonne graduée ce qui permet de lire le volume dégagé. A partir du volume, la quantité de carbonate de calcium est calculée.

### **1.2.4 Mesure du taux de matière organique du sol**

La mesure de la quantité totale de matière organique (MO) a été effectuée par détermination de la perte de poids après traitement à haute température de l'échantillon (« perte au feu »). La

matière organique est oxydée en produits volatils ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , ...). La « perte au feu » correspond à la combustion des substances carbonées, donc des matières organiques et à l'évaporation de l'eau du sol. Il faut prendre en compte l'eau liée aux argiles (10 %) et le C provenant des carbonates.

Un échantillon de 5 g de terre fine a été pesé dans un creuset puis a été porté au four à 750-800 °C pendant 30 minutes dans un Four à Moufles Nabertherm afin d'amener à une combustion complète les substances carbonées présentes dans le sol. La matière organique a été déduite de la différence de masse avant et après combustion. En mesurant le carbone, la teneur en matière organique est égale à 1,72 x carbone organique.

### **1.2.5 Détermination de la CEC, du taux de saturation et des éléments échangeables**

La capacité d'échange cationique (CEC) a été mesurée au pH du sol. Un aliquot de 2,5 g de sol séché et tamisé a été introduit dans un tube de centrifugation de 50 ml contenant 30 ml d'une solution de  $\text{BaCl}_2$  (0,1 M). Le tube a ensuite été mis à agiter pendant 1h puis centrifugé à 3000 g pendant 10 min. Le surnageant a ensuite été transvasé dans une fiole jaugée de 100 ml. L'opération a été répétée 2 fois en versant le surnageant dans la même fiole jaugée puis la fiole a été complétée à 100 mL avec le même extractant. L'extrait a ensuite été filtré sur filtre à 0,45  $\mu\text{m}$  puis conservé pour la détermination de la teneur en éléments traces par ICP-OES (Spectroblue).

Trente millilitres de solution de  $\text{BaCl}_2$  (2,5 mM) ont été ajoutés à l'échantillon de sol et a été laissé agiter pendant une nuit. Le lendemain, les tubes ont été centrifugés pendant 10 minutes à 3000 g. Le surnageant a été jeté et 30 ml d'une solution de  $\text{MgSO}_4$  (20 mM) ont été rajouté dans chaque tube. Après agitation pendant 12h, les tubes ont été centrifugés pendant 10 minutes à 3000 g. Le surnageant a ensuite été récupéré et la concentration de magnésium en excès par ICP-OES après une dilution au 50<sup>ème</sup> dans l' $\text{HNO}_3$  5%. Cela nous a permis d'évaluer la capacité d'échange cationique du sol.

### **1.2.6 Mesure de la granulométrie norme (NF X 31-107)**

L'analyse granulométrique a porté sur 20 g de sol fin préalablement séché et tamisé à 2 mm avec un tamis en inox. L'analyse granulométrique concerne uniquement la phase minérale du sol, la matière organique a été détruite en ajoutant de l'eau oxygénée (10 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  pour 20 g

de sol) dans un bécher. L'échantillon a ensuite été porté à ébullition sur un bain de sable. La matière organique est détruite lorsque le bouillonnement s'arrête. L'eau oxygénée est ensuite éliminée par ébullition. Le calcaire a été éliminé en ajoutant une solution d'acide chlorhydrique (HCl 0,2 M). La destruction du carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) est terminée à la fin de l'effervescence. La détermination de la granulométrie par sédimentation est basée sur la loi de Stokes (pour calculer la vitesse de sédimentation). Le calcul permet d'estimer le temps « t » du prélèvement des différentes fractions que sont l'argile + limons fins + limons grossiers, argiles + limons fins et argile qui sont caractérisées par leur diamètre moyen et leur densité moyenne. Chaque fraction prélevée avec une pipette Robinson a été mise dans un cristalliseur et mise à sécher au four à 105 °C.

Le culot a ensuite été transvasé dans un tamis de 50  $\mu\text{m}$  et lavé abondamment pour séparer les limons et les argiles des sables et graviers. Le culot a ensuite été séparé sur des tamis à mailles de 200  $\mu\text{m}$  (séparation des limons) et 50  $\mu\text{m}$  (fraction des argiles) sur agitateur vibrant.

### **1.2.7. Caractérisation de la phase labile des ETM**

Afin de déterminer les éléments traces métalliques biodisponibles dans la solution du sol, la méthode d'analyse par la DGT a été appliquée. Les cellules de DGT ainsi que les boîtes Petri en verre ont été mises dans des bains d'acides  $\text{HNO}_3$  5% pendant 24 h. Elles ont été rincées 3 fois avec l'eau ultrapure. Afin de limiter la contamination, le montage des cellules a été réalisé sous une hotte à flux laminaire. Les cellules ont été conservées pendant 24 h dans une solution ultra-pure de nitrate de sodium TraceSELECT® 0,01M. Pour chaque DGT (i.e. des triplicatas pour la deuxième campagne et une par échantillon de la première campagne) 30g de sol ont été pesé puis mis à 70% de la capacité au champ avec de l'eau ultrapure. Les sols humides ont été entreposés dans une salle climatisée à 22°C pendant 24 h. Après avoir été mis à l'équilibre ionique dans la solution de  $\text{NaNO}_3$  0,01M, j'ai déposé/enfoncé légèrement les cellules DGT sur les sols humides. Au bout de 48h, à une température constante de 22°C, les cellules ont été démontées puis on a récupéré les gels Chelex. Afin d'extraire les métaux de la couche du gel-résine, les gels ont été déposés dans 2mL d'une solution ultra-pure d'acide nitrique  $\text{HNO}_3$  2M pendant près de 7 jours, le tout conservé au frais. Après une dilution dans 10mL d'eau ultra-pure, la concentration de métaux dans le lixiviat d' $\text{HNO}_3$  a été mesurée par un ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry, SPECTROBLUE).

## 2 Matériel végétal

Les végétaux retenus dans le cadre de ce travail sont les espèces potagères – le haricot (*Phaseolus vulgaris* L. var. Fin de Bagnols), le poireau (*Allium porrum* L. var. Bleu de Solaise), l'épinard (*Spinacia oleracea* L. var. Junius), la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. var. Charlotte), le radis (*Raphanus sativus* L. var. 18 jours) et la tomate (*Lycopersicon esculentum* L. var. Marmande), des espèces phytostabilisatrices – le trèfle rampant (*Trifolium repens* L.), la luzerne (*Medicago sativa* L.) et le ray-grass (*Lolium perenne* L. Var. NUI) et des espèces phytoextractrices – la moutarde blanche (*Sinapis alba* L.), moutarde brune (*Brassica juncea* L.), corbeille d'or (*Aurinia saxatilis* L.) et chou fourrager (*Brassica oleracea* L.). Toutes les espèces végétales utilisées dans ce travail, sont récapitulées dans le tableau 1.

**Tableau 1 : Récapitulatif des espèces utilisées**

Espèce végétale	Organe	Très faible accumulateur	Peu accumulateur	moyennement accumulateur	Très accumulateur
<b>Espèce potagère</b>					
Haricot (légume fruit)	Grain	Cd, Pb, Hg, Cr, Se		Ni	
Tomate (légume fruit)	Fruit	Cd, Pb, Hg, Cr, Se			
Pomme de terre (légume racine)	Tubercule	Cd, Pb, Se, Zn	Cu, Ni	Cr	
Radis (légume racine)	Racine	Cd, Pb			
Poireau (légume feuille)	Tige et feuilles		Cr	Ni, Zn	Cd, Hg, Pb, Se
Epinard (légume feuille)	Feuilles	Se, Pb	Cu	Cr, Hg	Cd, Zn
<b>Espèce phytostabilisatrice</b>					
Trèfle			Cd, Ni, Pb	Cr, Cu, Zn	

rampant			
Luzerne	Tige et feuilles	Cr, Se	Ni, As
Raygrass	Tige et feuilles	Cr, Se	Cd
<b>Espèce phytoextractrice</b>			
Moutarde blanche	Tige et feuilles		Tl, As
Moutarde brune	Tige et feuilles		Cd, Cu, Cr, Ni, Zn
Corbeille d'or	Tige et feuilles		Ni
Chou fourrager	Feuilles		Cd, Zn

Sources : Anne Tremel-Schaub et Isabelle Feix, 2005 ; Aslam *et al.*, 2015 ; Vaneka *et al.*, 2010 ; Kuszniereicz *et al.*, 2012.

Avant la mise en place des cultures, la terre a été labourée et nivelée. Le semis a été réalisé le 25 mars 2015 sur six parcelles et les récoltes des plantes potagères (pour les fruits du haricot et de la tomate) à des intervalles de temps réguliers, de fin juillet à septembre 2015, selon le degré de maturation des fruits. Notre plan d'expérimentation est composé de 6 modalités (Fig. 14): (1) sol nu, (2) plantes potagères (racines/feuilles/fruits), (3) plantes phytostabilisatrices, (4) plantes potagères - plantes phytostabilisatrices, (5) plantes phytoextractrices et (6) plantes potagères - plantes phytoextractrices. En tout, 6 parcelles de 2 m x 2 m (4 m<sup>2</sup>) avec un couloir de 50 cm entre 2 parcelles. Chaque parcelle est divisée en bloc de 30 cm x 30 cm avec une culture simultanée de différentes plantes. Les 6 parcelles ont été cultivées selon la figure 14.



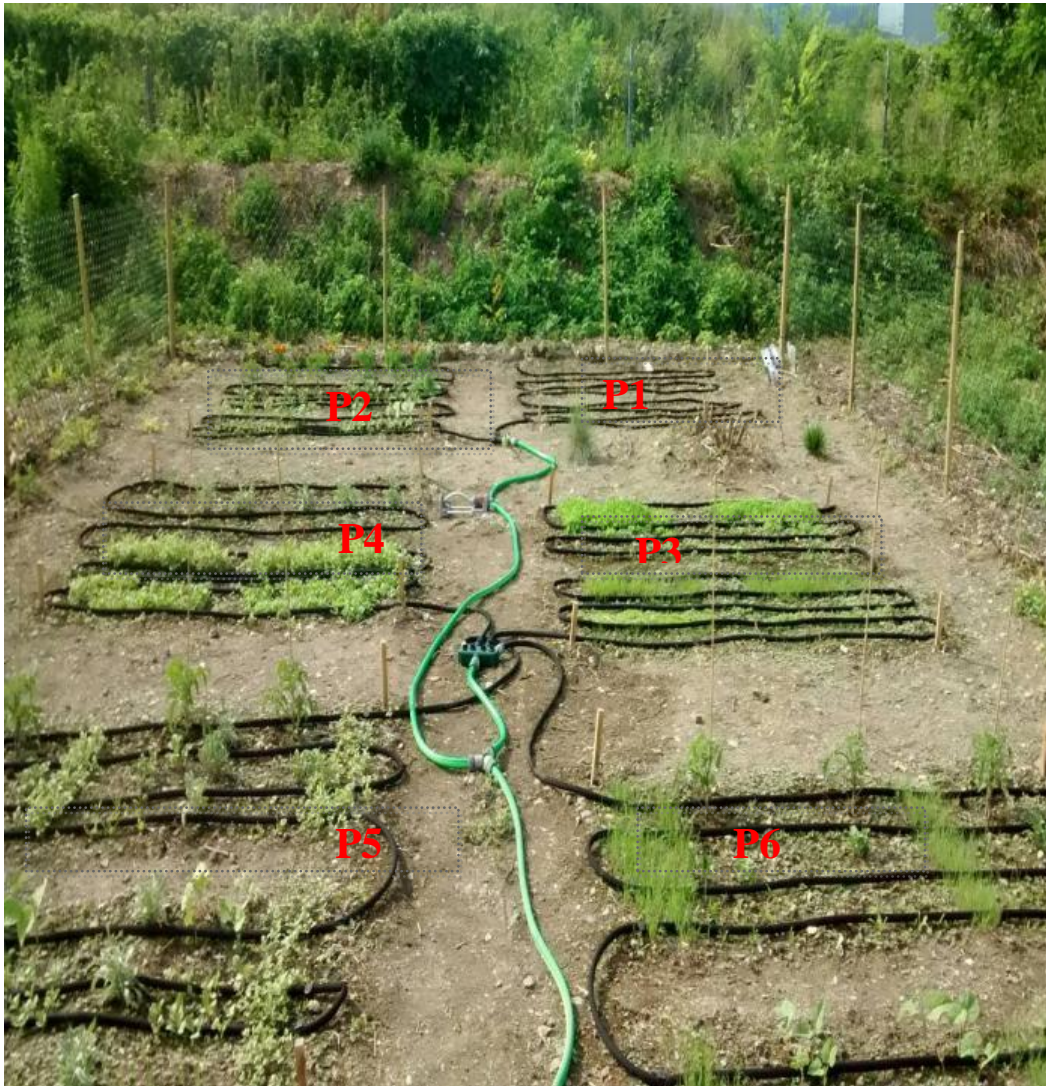


Figure 14 : Disposition des parcelles du site de Pierre-La-Fitte. (1) sol nu ou témoin, (2) plantes potagères (racines/feuilles/fruits), (3) plantes phytostabilisatrices, (4) plantes potagères - plantes phytostabilisatrices, (5) plantes phytoextractrices et (6) plantes potagères - plantes phytoextractrices.

L'observation et le suivi de l'évolution de l'état des cultures ont été réalisés quotidiennement avec un arrosage régulier, pendant une durée de cinq mois. La parcelle « sol nu » a été régulièrement désherbée pour éviter sa recolonisation. Après la récolte, les plantes ont été nettoyées, pour être analysées au laboratoire.

## 2.1 Protocole des prélèvements et préparation des échantillons

### 2.1.1 Récolte des végétaux

Les parties aériennes et racinaires des plantes potagères ont été prélevées en vue d'une analyse de l'accumulation des éléments traces dans les différents organes (racine, tubercule, tige, feuille, fruit). Les parties aériennes (feuilles, tiges et fruits) ont été séparées de la partie racinaire à l'aide d'un couteau en céramique pour éviter toute contamination (gants latex non poudrés).

De retour au laboratoire, les échantillons des végétaux ont été pesés afin de déterminer la masse fraîche puis immédiatement lavés et nettoyés à l'eau déminéralisée (bains successifs) jusqu'à élimination complète des particules de sol. Le protocole de lavage est finalisé par deux bains à l'eau déminéralisée et un bain à l'eau distillée. Après lavage, les échantillons ont été séchés à l'air libre pendant 24 h, puis placés dans des enveloppes dûment identifiées. Ils ont ensuite été séchés à l'étuve à 60 °C jusqu'à poids constant, puis pesés afin de déterminer la matière sèche.

### **2.1.2 Broyage des végétaux**

Après la déshydratation complète des échantillons à l'étuve à 60 °C, chaque échantillon a été broyé individuellement à l'aide d'un broyeur rapide à rotor « Pulvérisette 14 » (Fritsch) avant analyse des éléments traces (Fig. 15). Cet appareil en titane permet la réduction rapide de matériaux mi-durs à mous, d'une granulométrie maximale de 10 mm. Le choix du tamis circulaire définit la granulométrie finale. Cet appareil permet en outre la dispersion et l'homogénéisation d'échantillons secs. Après broyage, la poudre de chaque échantillon a été récupérée dans le bol et conditionnée dans les tubes Flacons en reportant le code de l'échantillon (espèce – parcelle – bloc – date) et la date du broyage. Pour traçabilité, l'ensemble de ces informations ainsi que l'opérateur ayant réalisé le broyage ont été reportés dans un fichier récapitulatif.





Figure 15 : Broyeur des végétaux avec broyeur rapide à rotor « Pulvérisette 14» (Fritsch)

### 2.1.3 Protocole de nettoyage du matériel de broyage

Avant et après chaque utilisation, le matériel de broyage incluant l'ensemble des éléments mobiles du broyeur (base du rotor, rotor en titane, tamis annulaire de 0,2  $\mu\text{m}$  en titane, récipient collecteur et couvercle du bol) a été nettoyée selon le protocole suivant :

- Pré-nettoyage des pièces à anfractuosités dans un bain à ultrasons (tamis, support du rotor et rotor)
- Lavage de l'ensemble des pièces à l'eau de robinet
- Rinçage à l'eau déminéralisée (x 2)
- Rinçage à l'eau distillée
- Rinçage à l'éthanol absolu 99,9 % (qualité HPLC)
- Séchage des surfaces à l'aide d'une chiffonnette

## 2.2 Analyse des métaux dans les végétaux

Pour analyser les teneurs en métaux dans les échantillons de végétaux, la méthode de digestion humide a été utilisée suivie par une analyse ICP – OES au laboratoire de l'Institut Francilien Ingénierie (Université Paris Est Marne la Vallée). Pour chaque analyse, un échantillon de 0,5 g a été pesé avec précision et digéré avec 5 ml d'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$  65 %) et 2 ml de peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$  30 % v/v). Les béchers de 50 ml ont été placés sur plaque chauffante couverte à une température de 125 °C pendant 4 heures (Fig. 16).

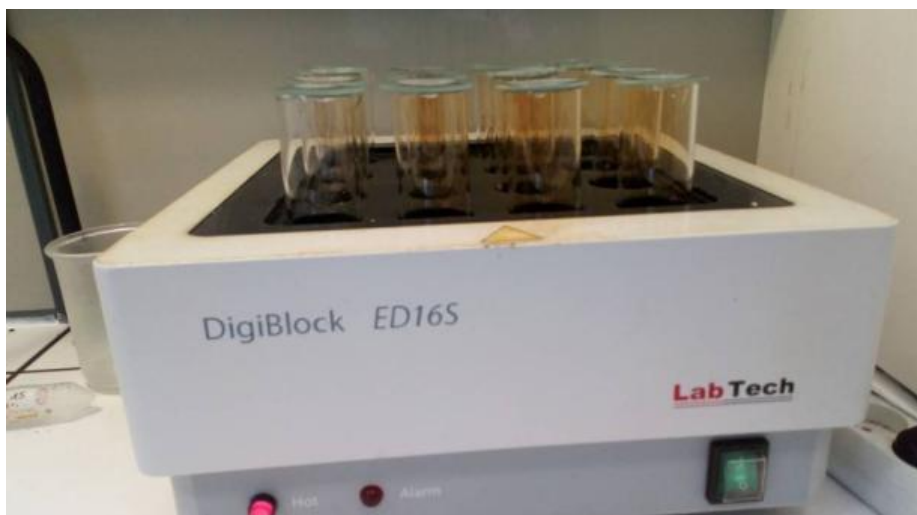


Figure 16 : Plaque de minéralisation et tubes à minéraliser utilisés pour les échantillons de végétaux

Après 1 heure, les béchers ont été retirés du bloc chauffant et puis 2 ml de  $H_2O_2$  30% a été ajouté à la même température jusqu'à ce que l'échantillon soit complètement digéré. Le chauffage a été répété 3 à 4 fois avec des additions de  $H_2O_2$  jusqu'à ce que le résidu soit clair ou blanc (Fig. 17).



Figure 17: Filtration des échantillons après minéralisation

Après refroidissement complet, les échantillons ont été filtrés à travers le papier filtre Whatman N° 42 et ajustés à 50 ml avec de l'eau ultra pure puis filtrés à travers un filtre seringue N° 45 de façon à ce que la teneur en acide soit inférieure à 10 %, pour pouvoir être analysés par spectrométrie d'émission atomique plasmatique couplée inductivement ICP-OES

(Fig. 18) pour les éléments traces : As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn. La qualité des résultats a été validée grâce à l'utilisation d'un matériau de référence (feuilles de tabac (INTC-OBTL-5) de concentrations connues en tous les éléments) et un standard interne (matériel végétal hétérogène : tomate) pour vérifier la dérive de l'appareil.

Pour chaque série de passage de 13 échantillons, un témoin ou blanc de minéralisation a été utilisé pour évaluer l'interférence et la contamination croisée.

Pour calibrer l'ICP, on a utilisé deux solutions étalons : une solution multi-élémentaire à 1000 µg/ml (Pb, Cd, Hg) et une solution d'arsenic (As) à 100 mg/L respectivement. Pour avoir une gamme d'étalonnage pour des solutions contenant respectivement 0 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/L de As, Pb, Cd et de Hg, des volumes connus de ces deux solutions ont été prélevés et dilués avec 5 ml d'HNO<sub>3</sub>, 4 ml d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> complétés à 50 mL d'eau pure. Ces étalons ont été passés avant les minéralisats pour tracer des courbes d'étalonnage. Une fois calibré, l'appareil mesure les longueurs d'ondes émises lors des passages des échantillons végétaux, qui seront directement rapportées aux courbes étalons pour avoir une concentration en mg/L.



Figure 18 : Appareil ICP-OES (Perkin Elmer Optima 8300) pour le dosage des éléments traces dans les végétaux

### **2.3 Détermination des paramètres de phytoremédiation – Facteur de Translocation (TF) et Facteur de bioconcentration (BCF)**

Afin d'évaluer la capacité des espèces à extraire les métaux du sol, à les accumuler dans la plante (facteur de bioconcentration – BCF) et à accumuler les métaux dans différents organes

par transfert depuis les racines vers les partie aériennes (facteur de translocation – TF), ces deux facteurs ont été utilisés pour estimer le potentiel d'une plante pour la phytoremédiation.

Le facteur de bioconcentration (BCF) et le facteur de translocation (TF) ont été calculés comme suit (Marchiol *et al.*, 2004 ;\_Ladislas *et al.*, 2012; Sabeen *et al.* 2013 ; Korzeniowska *et al.*, 2015 et Stanislawska-Glubiak *et al.* 2015) :

Facteur de Bioconcentration (**BCF**) = Concentration du métal dans la plante/Concentration du métal dans le sol.

Facteur de Translocation (**TF**) = Concentration du métal dans la partie aérienne/Concentration du métal dans les racines.

**TF tiges** = Concentration du métal dans les tiges/Concentration du métal dans les racines.

**TF feuilles** = Concentration du métal dans les feuilles/Concentration du métal dans les racines

**TF fruits** = Concentration du métal dans les fruits/Concentration du métal dans les racines

Si les rapports BCF et TF sont supérieurs à 1, cela signifie que la plante a le potentiel d'être utilisé pour la phytoextraction (Yoon *et al.*, 2006 ; Cheraghi *et al.*, 2011; Malik *et al.*, 2010).

Le Facteur d'Enrichissement (FE) a été aussi déterminé pour évaluer le degré d'accumulation des éléments traces dans les organes des végétaux à partir du sol. Les concentrations sont en mg/kg de matière sèche.

### **3 Expérience en mésocosmes (conditions contrôlées)**

L'expérience a été conduite dans la parcelle de la faculté des Sciences et techniques de l'UPEC (coordonnées géographiques : 48° 47' 17" nord, 2° 26' 39" Est) du 8 juillet au 22 septembre 2016.

Le but de cette partie est d'examiner les effets de la translocation et l'absorption des éléments traces dans la production du chou fourrager cultivée à proximité d'une plante potagère, chercher à tester l'effet d'une culture en association avec la moutarde blanche (espèce phytoextractrice) ou en monoculture sur sol pollué avec ou sans l'ajout d'acide [S,S] éthylènediaminedisuccinique (EDDS). Le chélateur permet d'induire l'accumulation de métaux lourds dans la plante par augmentation de la biodisponibilité de l'élément ciblé. Les chélateurs EDTA (éthylène diamine tetraaceticacide) et EDDS (éthylène diamine disuccinate

acide) sont les plus souvent utilisés en matière de phytoextraction induite et sont les plus efficaces à mobiliser les concentrations de Cu, Cd, Pb et Zn dans le sol vers les parties aériennes (Luo *et al.* 2006). Cette expérience a été conduite en pots en polyéthylène.

### **3.1 Sols et plantes utilisés**

Le sol utilisé pour étudier la capacité de phytoextraction de la moutarde blanche (*Sinapis alba*) et le chou fourrager (*Brassica oleracea*) a été collecté à partir du même site (La Pierre-Fitte). Le sol a été prélevé dans la partie polluée au nord du site de La pierre Fitte. Le sol a été séché à l'air libre et tamisé à 2 mm. Il est ensuite homogénéisé, 1,5 kg sont pesés et placés dans chaque pot en plastique. Avant la mise en pot du sol, le fond des pots est tapissé d'un filtre pour empêcher le sol de sortir. Chaque pot (12 cm de diamètre et 21 cm de hauteur, 2,5 L) contenait 1,5 kg de sol, cinq graines de *Sinapis alba* et cinq graines de *Brassica oleracea*. Chaque pot a été placé à l'intérieur un morceau de tissu feutré pour éviter l'écoulement de la terre.

Les deux espèces *Sinapis alba* et *Brassica oleracea* ont été semées directement dans les pots le 8 juillet 2016, selon deux conditions : en culture seule (soit *Brassica oleracea* soit *Sinapis alba*) et en co-culture (*Brassica oleracea* + *Sinapis alba*). Pour le semis, cinq graines ont été déposées par pot dans la monoculture et trois graines de chacune d'espèce dans la co-culture, légèrement recouvertes de sol. Au total, 48 pots avec ou sans apport d'EDDS (Fig. 19). Au cours de l'expérience, l'humidité du sol a été maintenue avec de l'eau du robinet quotidiennement. Vingt quatre jours après le semis direct, le programme de traitement de 3 mmol/kg d'EDDS par pot a été commencé. Tous les huitièmes jours, la quantité de 3 mmol/kg d'EDDS a été ajoutée dans la moitié des pots et la récolte a été effectuée le 22 septembre 2016. Les protocoles de récolte et préparation des échantillons des végétaux (partie aérienne et partie racinaire), jusqu'au broyage et à analyse ICP sont ceux décrits ci-dessus.

### **3.2 Caractérisation des communautés microbiennes de la rhizosphère**

Les structures de la communauté bactérienne ont été analysées à l'aide des empreintes digitales T-RFLP comme décrit par (Blaud *et al.*, 2015). Brièvement, le gène de l'ARNr 16S bactérien a été amplifié en utilisant des amorces marquées par FAM 63F et 1389R. Un thermocycleur BioRad T100 a été utilisé pour l'amplification avec les programmes suivants : dénaturation initiale à 94 °C pendant 2 min, suivie de 30 cycles de 94 °C pendant 30s, 57 °C pendant 45s et 72 °C pendant 90s, suivis d'un temps d'extension final à 72 °C pendant 10 min. Les produits de PCR bactériens ont été digérés avec l'enzyme de restriction AluI (Thermo



Fisher). Après une étape de dessalage, 2µl de produits PCR ont été mélangés avec du formamide contenant 0,5% d'étalon de taille interne LIZ500 (Applied Biosystems) et dénaturés à 94 °C pendant 3 min. Les échantillons ont été soumis à une électrophorèse sur un séquenceur d'ADN capillaire ABI 3730 PRISM® (Applied Biosystems). Les profils génétiques ont été analysés à l'aide du logiciel GeneMapper® v3.7 (Applied Biosystems) comme décrit par Blaud *et al.*, (2015).

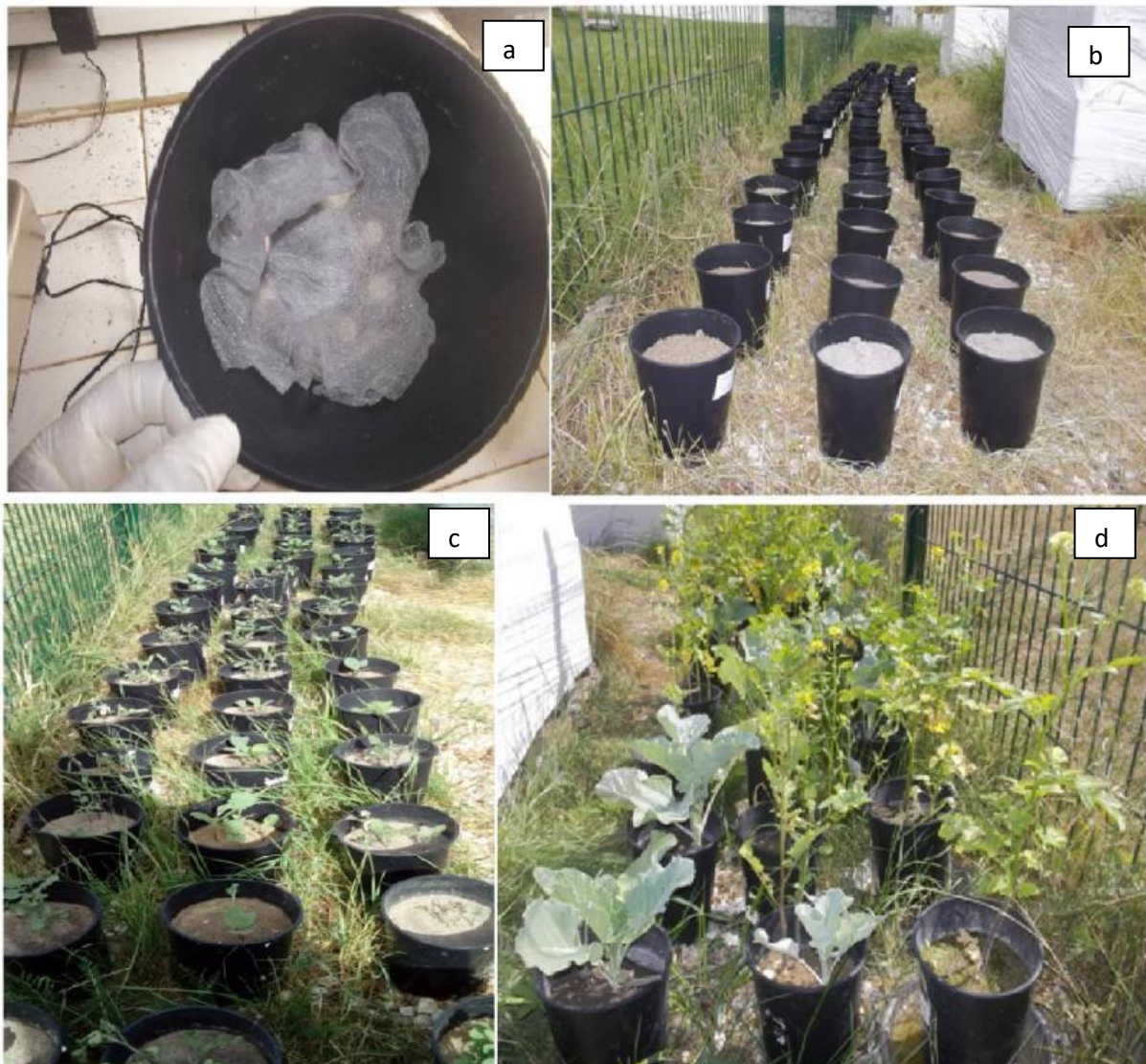


Figure 19 : Plan du dispositif expérimental en pots dans la parcelle de l'université Paris Est Créteil (a : préparation des pots, b : jour de semis, c : 20 jours après semis, d : 2 mois après semis).

### 3.2 Analyses statistiques

Les données présentées ont été traitées statistiquement par le logiciel IBM SPSS 20 statistics. Une analyse de variances (ANOVA) a été réalisée pour plusieurs moyennes au seuil de 5 %.

Nous avons pu ainsi vérifier à chaque fois si des différences significatives, au seuil 5 %, existent entre les différents organes et les différents traitements considérés. La comparaison des moyennes par le test Tukey a été effectuée pour les effets des organes et des traitements. Une autre analyse a été effectuée pour étudier les relations existantes entre les paramètres physico-chimiques des sols et les éléments traces métalliques.

Les valeurs affectées du même indice ne sont pas significativement différentes au risque d'erreur 5 %. L'analyse en coordonnées principales (PCoA) réalisée sur les profils T-RFLP des communautés bactériennes de la rhizosphère a été réalisée à l'aide du logiciel «ade4TkGUI» (logiciel R (version 2.12.0 R Development Core Team, 2008) afin d'identifier les regroupements potentiels dans les communautés microbiennes.

# **Partie 3**

## **Résultats**



# Chapitre 1 – La phytoremédiation en sol urbain : association entre plantes potagères et phytoremédiantes

## 1 Expérience 1 (*in situ*)

### 1.1 Avant propos

Cette première étude s'intègre dans un projet Partenariats Institutions-Citoyens pour la Recherche et l'Innovation (PICRI)- Reconversion d'une Friche Urbaine en Jardin (ReFUJ).

Les objectifs de cette première étude sont (a) de caractériser la mobilité des éléments traces dans le milieu, (b) de mesurer la contamination de la production potagère, (c) de tester des pratiques culturales novatrices pour la production potagère sur sols pollués (cultures en association avec des plantes remédiantes) et (d) d'évaluer différentes méthodes de phytoremédiation du site. Pour ce faire, les paramètres suivants ont été étudiés :

- propriétés agronomiques du sol (analyses de la granulométrie et caractérisation des éléments traces),
- teneur en matière sèche des différentes parties de la plante,
- éléments traces dans les plantes (As, Cd, Cu, Ni, Pb et Zn),
- Facteurs de bioconcentration et Facteur de transfert (BCF, TF).

Cette partie correspond à l'article publié sur Environmental Science and Pollution Research. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14512-2>.

### 1.2 Expérimentation

Dans les parcelles de 2 m × 2 m décrites ci-dessus, des blocs séparés de 30 cm × 30 cm ont été conçus, dans lesquels les plantes ont été cultivées à des densités couramment trouvées dans les jardins potagers : une tomate, deux pommes de terre, neuf épinards, quatre haricots verts, seize radis et six plants de poireau. Des plantes phytoextractrices ont été semées suivant les instructions des fournisseurs. La co-culture a été réalisée en plantant les plantes potagères et les plantes phytoextractrices dans des blocs adjacents de 30 cm × 30 cm, aux densités indiquées ci-dessus. Chaque plante est cultivée en triplicat sur 3 blocs, par exemple pour la parcelle 2 : on aura P2B1, P2B2 et P2B3. L'analyse de la teneur en métaux des tissus végétaux a permis d'évaluer l'efficacité des traitements. Les associations de plantes remédiantes ont été constituées de 3 espèces sélectionnées parmi celles dont la capacité d'extraction a été démontrée dans la littérature.

Les plantes potagères ont été choisies de façon à avoir un légume racine, un légume feuille et un légume fruit et en fonction de leur potentiel de bioaccumulation des éléments traces décrit dans la littérature :

- Plantes potagères à fort potentiel d'accumulation : radis (*Raphanus sativus*. L.), épinard (*Spinacia oleracea* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) dans les feuilles mais faible accumulatrice dans les fruits.
- Plantes potagères à faible potentiel d'accumulation : pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.), poireau (*Allium porrum*. L.), haricot (*Phaseolus vulgaris* L.).

Pour chaque plante, nous avons analysé 2 organes pour les phytoextractives (parties aériennes et racinaires) et 3 organes pour les potagères (partie comestible, partie aérienne et partie racinaire).

## 2 Résultats

### 2.1 Evaluation de la biomasse sèche des plantes phytoextractives (P5)

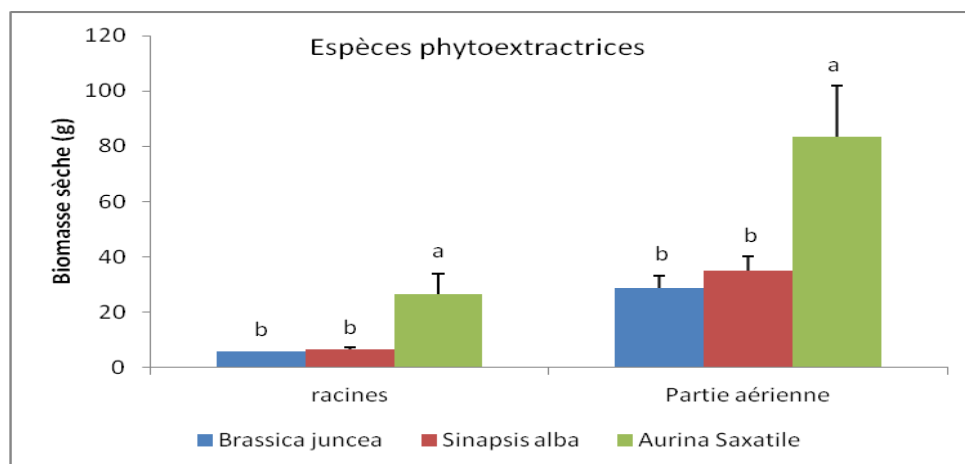


Figure 1 : Biomasses sèches des plantes phytoextractives (P5). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey

L'évaluation de la biomasse finale sèche produite pendant le cycle de la culture, autant au niveau de l'appareil végétatif qu'au niveau des racines (Fig. 1), a permis de mettre en évidence des différences significatives des plantes phytoextractives (p-value = 0,002 pour les deux parties d'organes). Les espèces phytoextractives (Fig. 1), *A. saxatile* présente la production de biomasse sèche la plus élevée pour les racines et les parties aériennes, alors que

*B. juncea* et *S. alba* ont des biomasses similaires ( $26,46 \pm 7,59$ ,  $6,69 \pm 0,54$  et  $5,7 \pm 0,18$ g pour les racines et  $83,30 \pm 18,50$ ,  $35,1 \pm 5,18$  et  $28,55 \pm 4,46$ g pour les parties aériennes).

## 2.2 Concentrations en éléments traces dans les plantes phytoextractrices (P5)

Les résultats des éléments traces (As, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) absorbés dans les différentes parties des plantes (racines et partie aérienne) de *Brassica juncea* (moutarde brune), de *Sinapis alba* (moutarde blanche) et d'*Aurinia saxatilis* (alysse) sont représentés sur la figure 2.

Les teneurs en Cd et Ni dans les deux organes sont identiques. Concernant les concentrations en As dans les racines, l'*Aurinia saxatilis* a accumulé les plus faibles concentrations ( $4,90 \pm 0,96$  mg/kg MS) par rapport aux deux autres plantes (*Brassica juncea* et *Sinapis alba*) qui sont similaires ( $7,15 \pm 0,19$  et  $7,52 \pm 0,38$ mg/kg MS). *Sinapis alba* a enregistré les concentrations en Cu les plus élevées dans les racines ( $17,82 \pm 7,59$  mg/ kg), suivies de *Brassica juncea* ( $11,23 \pm 0,44$  mg/kg) et enfin *Aurinia saxatilis* ( $5,97 \pm 2,24$  mg/kg MS). La concentration en Cu de la partie aérienne (Fig. 2) ne montre pas de différence significative quelles que soit l'espèce ( $p = 0,985$ ).

En ce qui concerne la teneur en Pb (figure 2), des différences significatives ont été observées dans les parties aériennes ( $p = 0,001$ ). *Aurinia saxatilis* ne présente pas de différences significatives. *Brassica juncea* et *Sinapis alba*, avec une concentration en Pb dans les parties aériennes similaires ( $4,20 \pm 2,69$  et  $4,12 \pm 3,60$  mg / kg MS) accumulent environ 5,5 fois moins que *A. saxatilis*, et dans les parties souterraines des deux plantes (*Brassica juncea* et *Sinapis alba*) ces valeurs sont aussi similaires ( $58,61 \pm 6,95$  et  $57,30 \pm 15,61$  mg/kg MS),

En ce qui concerne le Zn (fig. 2), la teneur la plus élevée dans les racines ( $290,01 \pm 113,02$ ) a été accumulée par *Sinapis alba*, suivie de *Brassica juncea* ( $154,82 \pm 29,16$ ) et enfin, *Aurinia saxatilis* ( $69,23 \pm 9,39$  mg / kg MS). Dans la partie aérienne, il a été observé que *Sinapis alba* accumule la teneur en Zn la plus élevée ( $526,06 \pm 111,67$ ) en comparaison avec *Brassica juncea* ( $228,28 \pm 6,29$ ) et *Aurinia saxatilis* ( $89,61 \pm 13,75$  mg/kg MS).

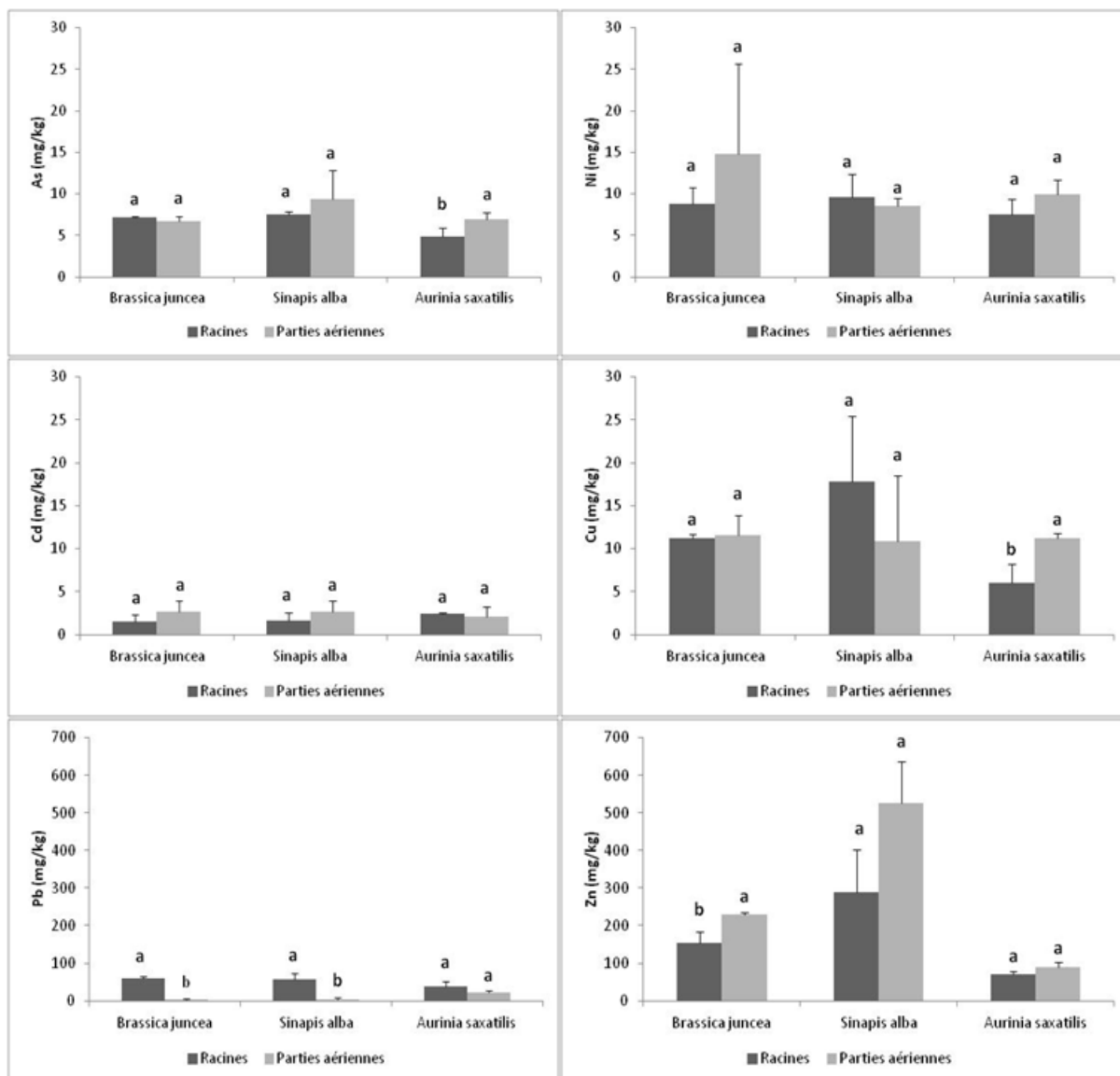


Figure 2: Concentrations moyennes d'As, Cd, Cu, Ni, Pb et Zn dans les plantes phytoextractrices. Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey.

### 2.2.1 Concentrations en As et Ni dans les plantes potagères

Pour éviter les répétitions, les éléments (Cd, Cu, Pb, Zn) accumulés dans les plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices sont présentés et discutés en article 1. Les deux autres éléments tels que As et Ni sont présentés dans cette sous partie.

#### Arsenic

Lorsque l'on compare les résultats de 3 modalités de culture, plantes potagères (légumes racines/feuilles/fruits) (P2), potagères associées à des plantes phytostabilisatrices (P4) et plantes potagères associées à des plantes phytoaccumulatrices (P6), on observe qu'ils sont similaires quel que soit l'organe analysé. L'étude de la figure 3 montre que les concentrations

en As dans les parties consommées sont largement supérieures à la valeur limite (0,5mg/kg MS) de la directive chinoise GB 2762-2012.

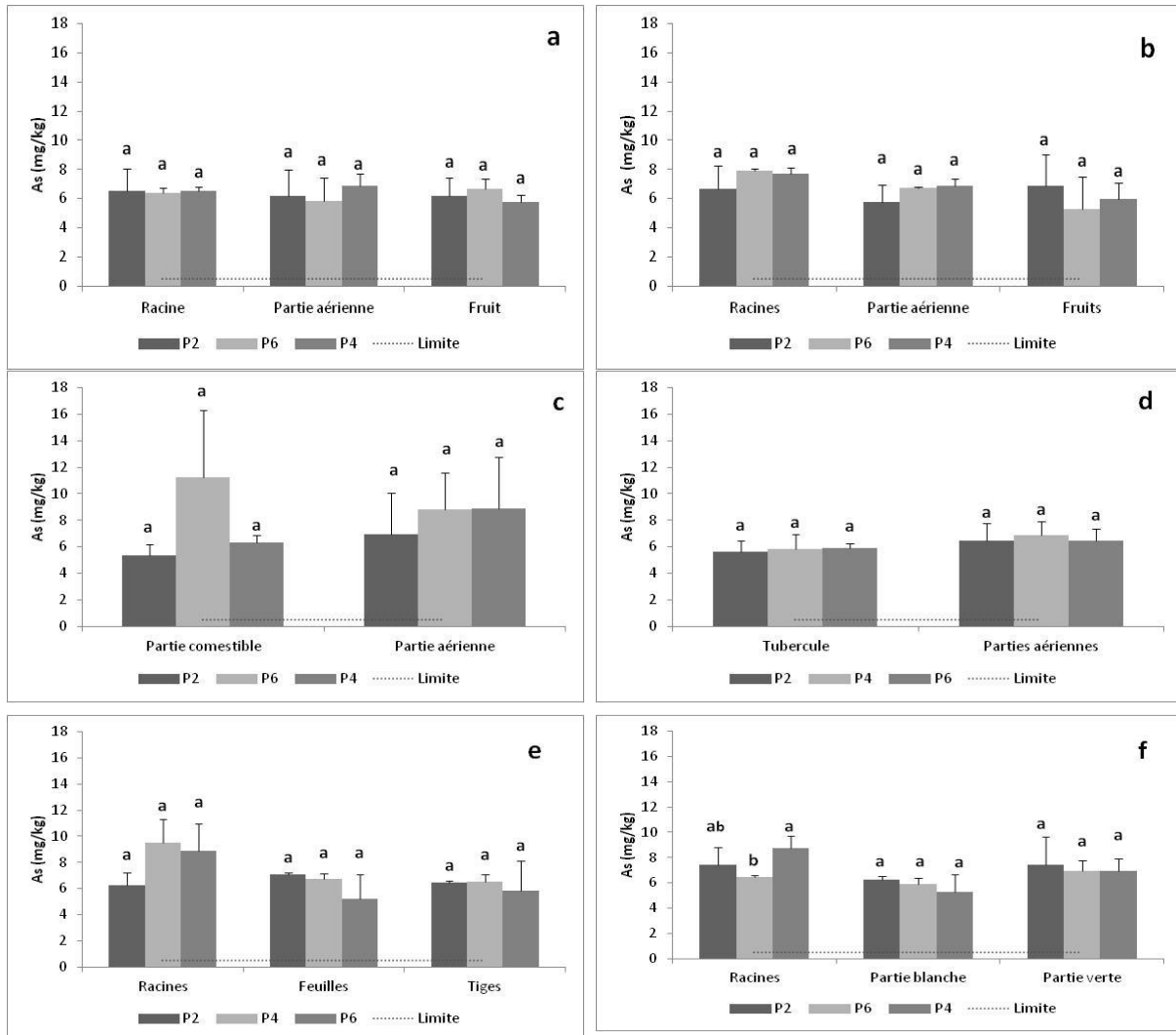


Figure 3. Concentration moyenne d'As (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères (a: *Solanum lycopersicum* , b: *Phaseolus vulgaris* , c: *Raphanus sativus*, d: *Solanum tuberosum*, e: *Spinacia oleracea* et f: *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices) et P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey.

## Nickel

La figure 4 présente les concentrations en Ni mesurées dans les plantes potagères. La tomate (*Solanum lycopersicum L.*) (Fig. 4a), le haricot (*Phaseolus vulgaris L.*) (Fig. 4b), le radis (*Raphanus sativus. L.*) (Fig. 4c) et l'épinard (*Spinacia oleracea L.*) (Fig. 4e) ne présentent pas de différences significatives quelle que soit la modalité de culture. Par contre on mesure la concentration en Ni la plus élevée au niveau des tubercules de la pomme de terre (Fig. 4d),

dans la parcelle association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) ( $14,46 \pm 0,89 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ MS}$ ), alors que les concentrations mesurées dans les tubercules sont similaires dans les traitements monoculture (P2) et association potagères - plantes phytoextractrices (P6) ( $7,49 \pm 1,84$  et  $6,56 \pm 1,77 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ MS}$ ). En ce qui concerne la partie aérienne de la pomme de terre, aucune différence significative n'a été observée ( $p\text{-value} = 0,057$ ). Pour le poireau (Fig. 4f), aucune différence significative n'a été détectée entre la partie racinaire et les parties blanches (plateau plus feuilles non chlorophylliennes) et la partie aérienne verte ( $p\text{-values} = 0,135$  et  $0,353$ ). Pourtant, au niveau de la partie blanche, on a mesuré sur l'association potagères - plantes phytostabilisatrice (P4) la teneur en Ni la plus élevée ( $15,28 \pm 3,13 \text{ mg/kg MS}$ ), alors que les concentrations mesurées dans les parcelles monocultures (P2) et association potagères - plantes phytoextractrices (P6) sont identiques, quelle que soit la modalité de culture ( $7,15 \pm 1,09$  et  $6,57 \pm 1,81 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ MS}$ ). Les concentrations en Ni accumulées dans les parties comestibles ont largement dépassé le seuil réglementaire ( $0,3 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ MS}$ ) de la directive chinoise précitée.

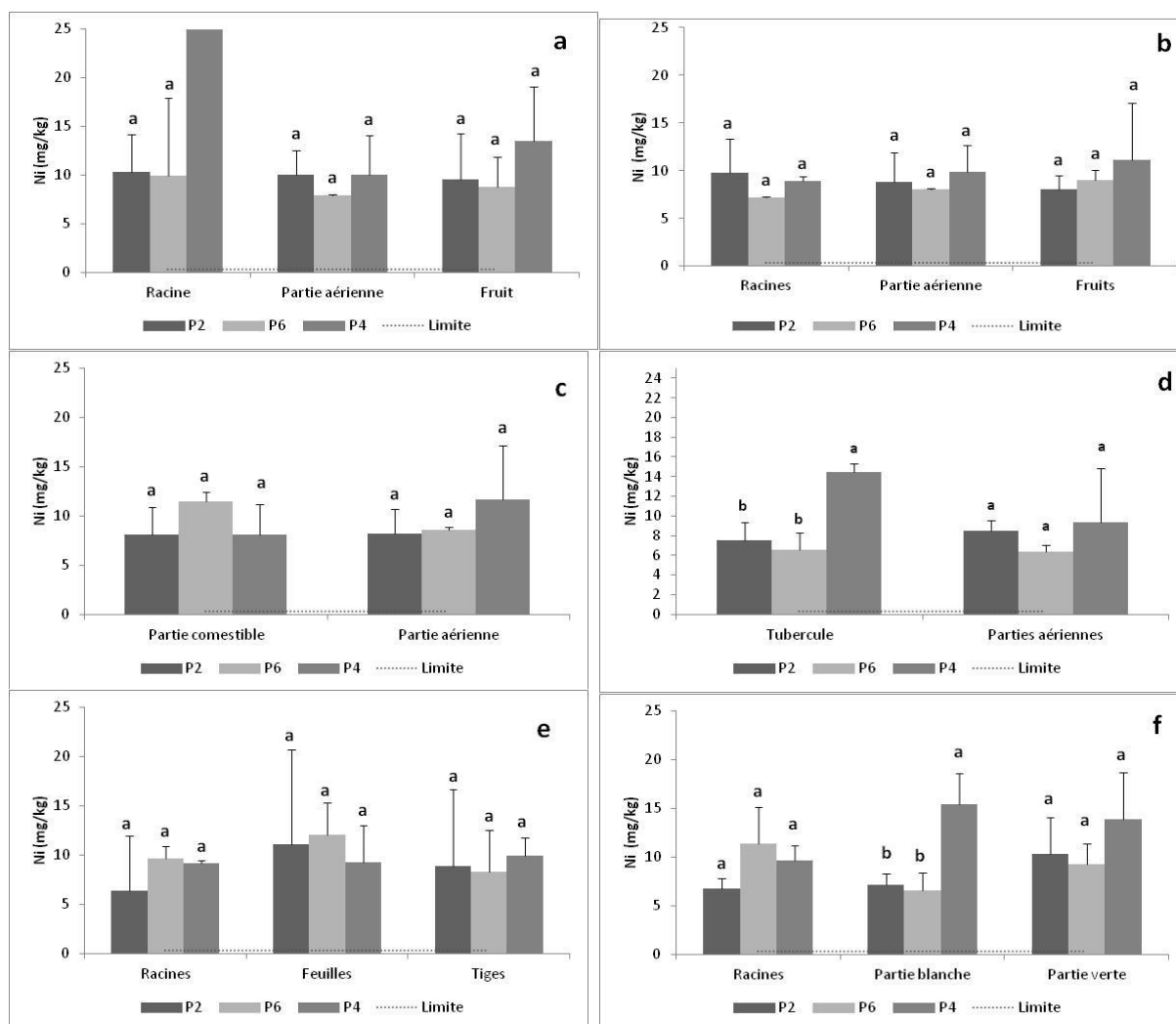


Figure 4. Concentration moyenne de Ni (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus*, d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices) et P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey.

## 2.2.2 Concentrations en éléments traces dans les organes non comestibles influencés par les espèces phytoextractrices (P6)

Les résultats présentés dans cette section correspondent à des éléments en traces métalliques absorbés par les plantes potagères (P2) associées avec les plantes phytoextractrices (P6).

Les teneurs en Cd des plants de tomates, haricots verts, radis, pomme de terre, épinard et poireau étaient globalement identiques dans toutes les parties non comestibles quel que soit le mode de culture (Fig. 5). Des quantités équivalentes de Cd ont été mesurées dans les parties souterraines de radis et d'épinard (Fig. 5c, e), tandis que les teneurs en Cd étaient plus élevées dans la parcelle P6 que les plantes cultivées en monocultures, même si cette différence n'était

pas statistiquement significative. Les concentrations en Cd de pomme de terre (Fig. 5d) sont les plus élevées dans les parties aériennes mais sans aucune différence significative.

On observe que les plantes cultivées dans la parcelle P6 (association) ont accumulé plus de Cu dans les parties aériennes de la tomate et de la pomme de terre ainsi que dans les racines des haricots, épinards et poireaux (Fig. 6b, e, f), même si les écarts ne sont pas statistiquement significatifs. Par contre des différences significatives ont été observées chez la tomate (feuilles) et le poireau dans les racines (Fig. 6a, f). Dans les racines de tomate et de poireau (Fig. 7a, f), la parcelle P6 (association) a enregistré plus de Pb ( $42,86 \pm 8,67$  et  $32,54 \pm 4,34$  mg/kg MS) par rapport à la monoculture ( $19,35 \pm 2,67$  et  $22,01 \pm 3,91$  mg/kg MS). Inversement pour le haricot et le radis (Fig. 7b, c) dans les parties aériennes, la parcelle monoculture (P2) a accumulé plus de Pb ( $10,88 \pm 2,22$  et  $5,79 \pm 1,86$  mg/kg) que celui du traitement association plantes potagères-plantes phytoextractrices P6 ( $4,23 \pm 0,18$  mg/kg MS). Les plants de tomates, de pomme de terre et de poireau, la majeure partie de Zn est accumulée dans les parties non comestibles (Fig. 8a, d, f). La présence des plantes phytoextractrices a induit l'accumulation de Zn dans les racines et feuilles de tomate, les feuilles de pomme de terre et dans les racines de poireau.

### **2.2.3 Concentrations des éléments traces dans les organes comestibles influencées par les espèces phytoextractrices**

Les concentrations en cadmium, quels que soient le système de cultures ou l'espèce, ne présentent aucune différence significative (Fig. 5). La parcelle P6 dans le cas des haricots et radis présente des concentrations de Cd plus élevées dans les parties comestibles ( $1,88 \pm 0,81$  et  $6,35 \pm 4,95$  mg/kg MS) par rapport à la monoculture ( $0,93 \pm 0,82$  et  $1,36 \pm 0,82$ ) et sont au dessus du seuil réglementaire. Mais cette différence n'est pas statistiquement significative. La présence des espèces phytoextractrices a induit une diminution de Zn dans les parties comestibles de poireau (parties blanche et verte) par rapport à la parcelle P2 (Fig. 5f), même si cette différence ne présente pas de différence significative.

En ce qui concerne les concentrations en Cu, les parties comestibles des tomates, haricots, radis, pommes de terre et poireaux ne présentent pas aussi des différences significatives quel que soit le mode de culture ou l'espèce (Fig. 6a, 6c, 6d et 6e). Par contre dans les épinards (Fig. 6e), des différences significatives ont été observées dans les feuilles et tiges. On voit que



la parcelle P6 (association) a absorbé plus de Cu dans les feuilles et tiges ( $20,52 \pm 0,77$  et  $16,78 \pm 2,10$  mg/kg MS) que celle de P2 ( $13,81 \pm 1,26$  et  $10,00 \pm 1,18$  mg/kg MS).

En ce qui concerne les teneurs en Pb accumulées dans les tomates (Fig. 7a), les radis (Fig. 7c) et les pommes de terre (Fig. 7d), les épinards dans les feuilles et les poireaux (parties blanche et verte) des parties comestibles, on n'observe aucune différence significative quel que soit le mode de culture. Par contre la présence des espèces phytoextractrices a induit une augmentation de Pb dans les tiges des épinards par rapport à la parcelle P2. Les concentrations en Pb sont au dessus du seuil réglementaire de l'UE dans les parties comestibles de pomme de terre pour les deux systèmes de culture, et pour l'épinard dans les feuilles mais uniquement sur la P6 et dans les tiges quel que soit le mode de culture. En ce qui concerne le Zn (Fig. 8), la parcelle P6 (association) a enregistré les plus fortes concentrations quel que soient l'espèce et l'organe sauf pour les légumes fruits et racines dans les parties comestibles. Les valeurs du seuil réglementaire sont au dessous sauf pour les feuilles de l'épinard. Par contre, la présence des espèces phytoextractrices a induit une diminution de Zn dans les parties comestibles dans les parties comestibles de radis (Fig. 8c).

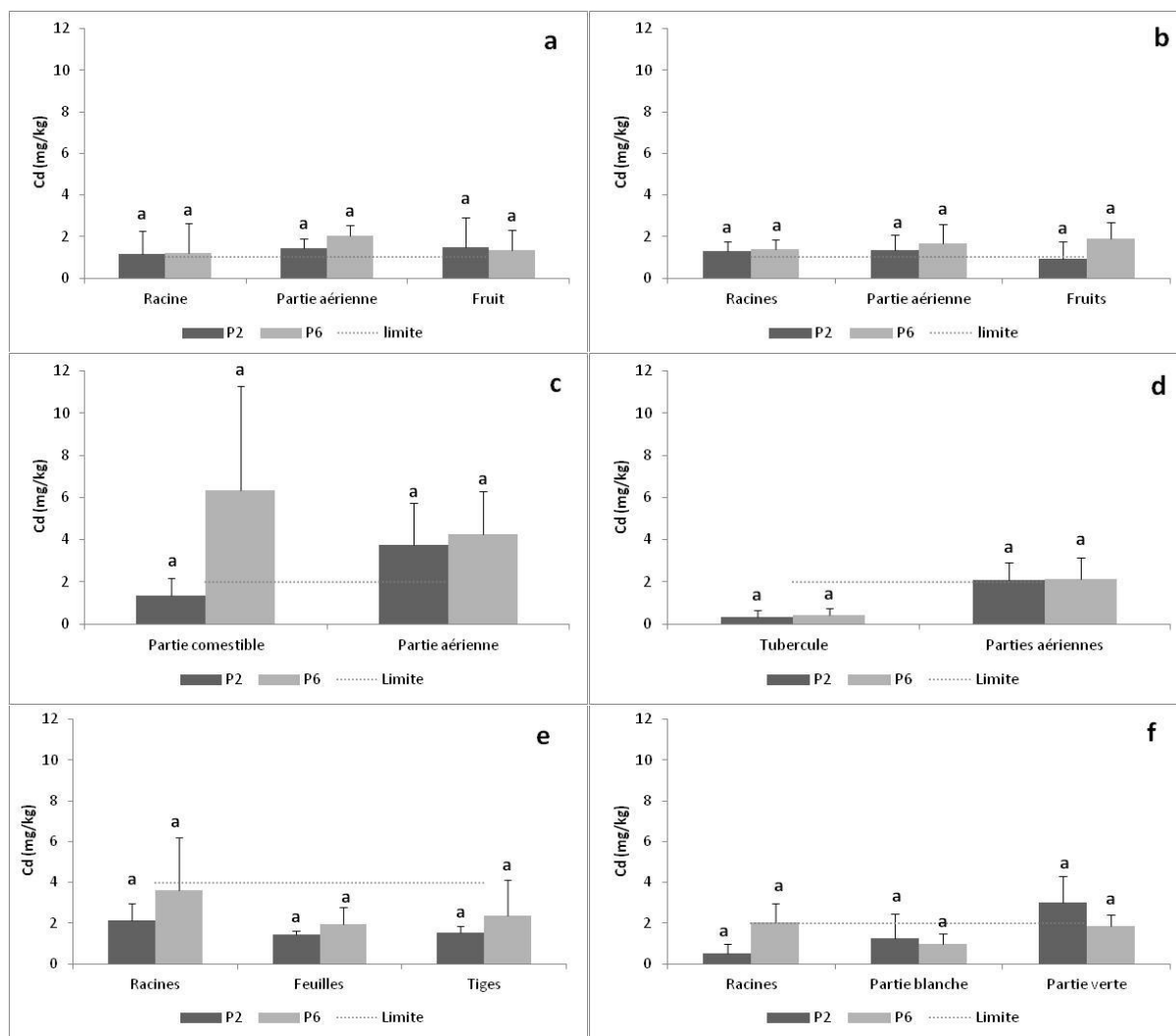


Figure 5. Concentration moyenne de Cd (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus*, d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey.

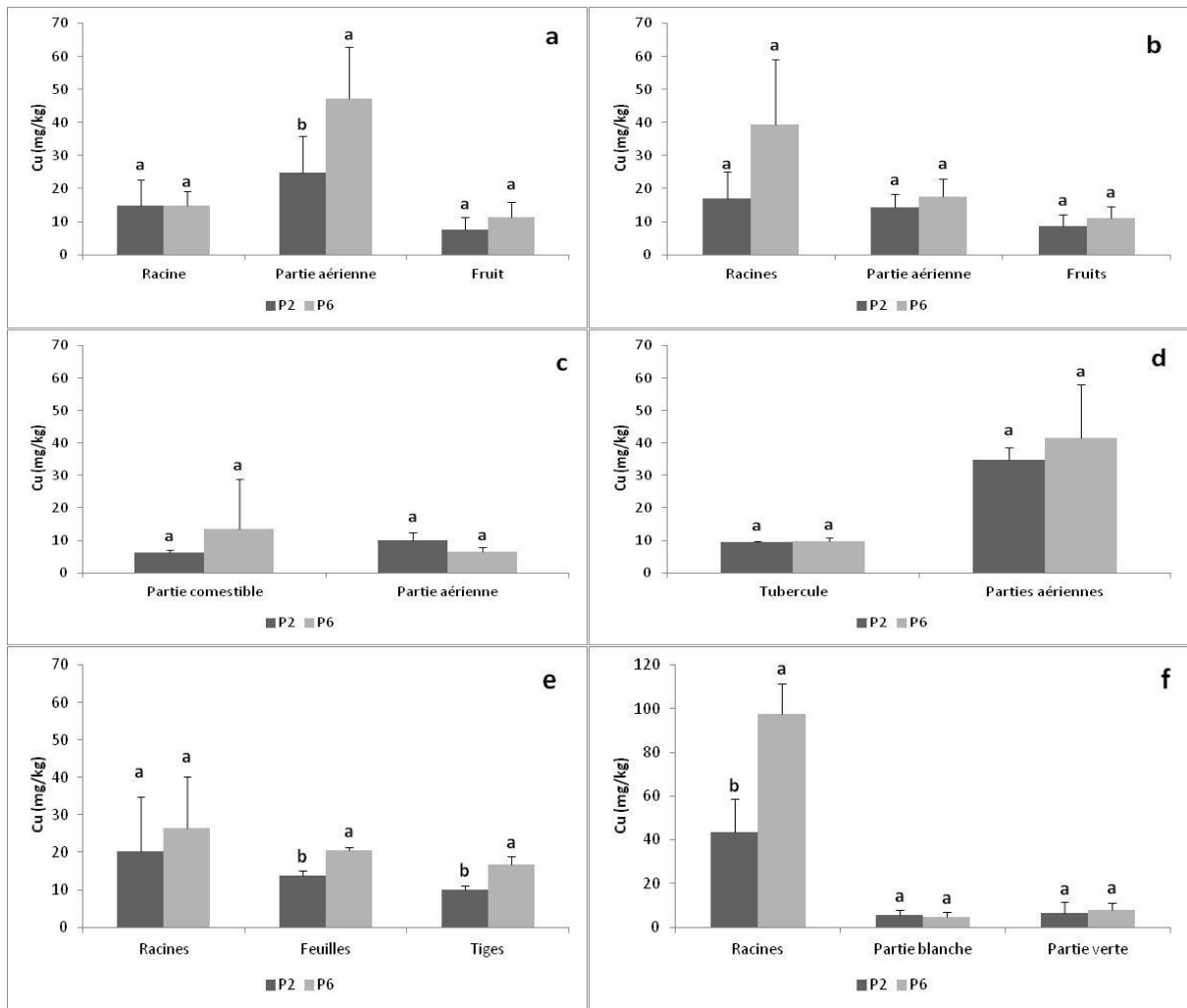


Figure 6. Concentration moyenne de Cu (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus*, d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey.

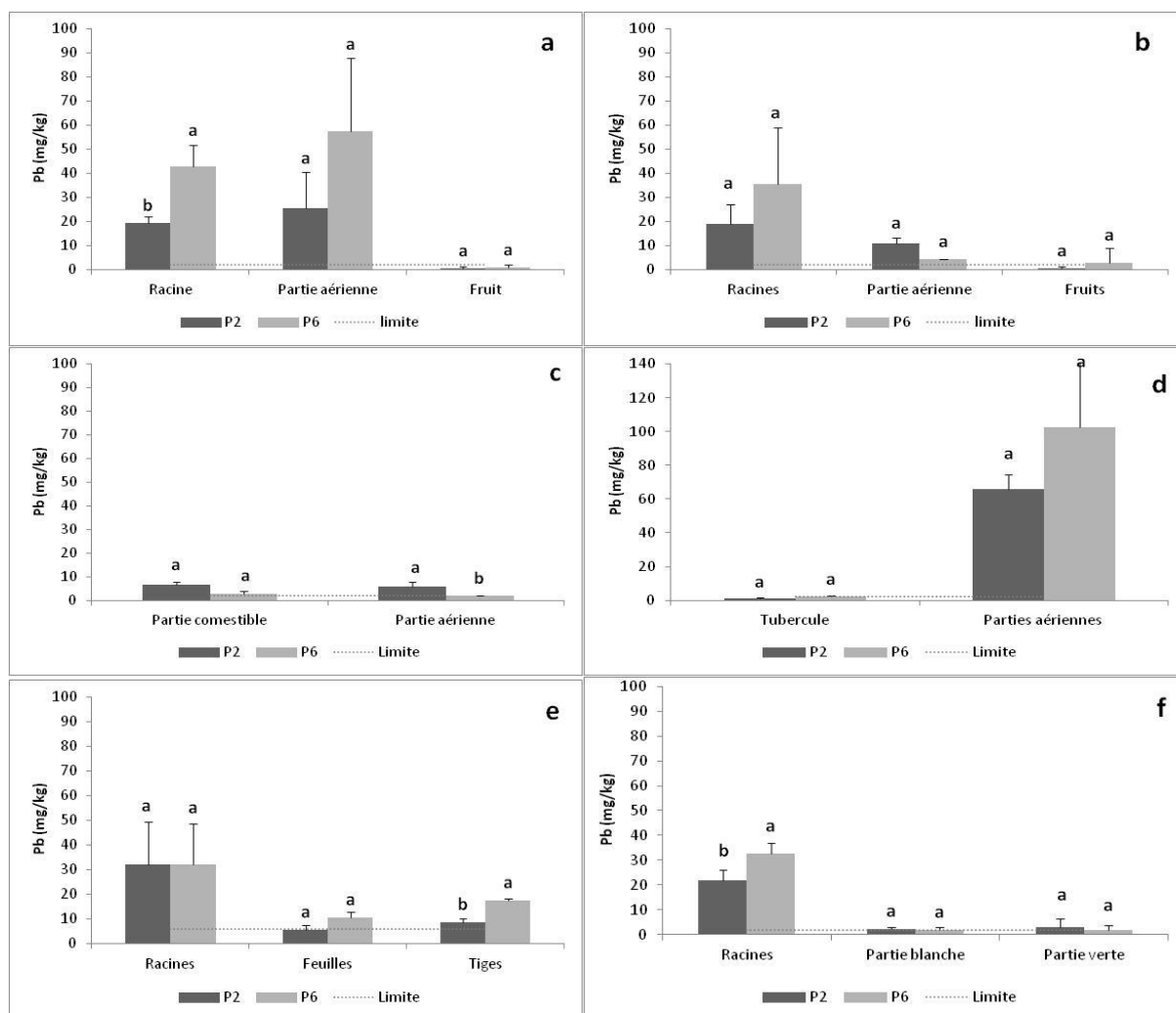


Figure 7. Concentration moyenne de Pb (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères (a : *Solanum lycopersicum*, b : *Phaseolus vulgaris*, c : *Raphanus sativus*, d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum*). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey.

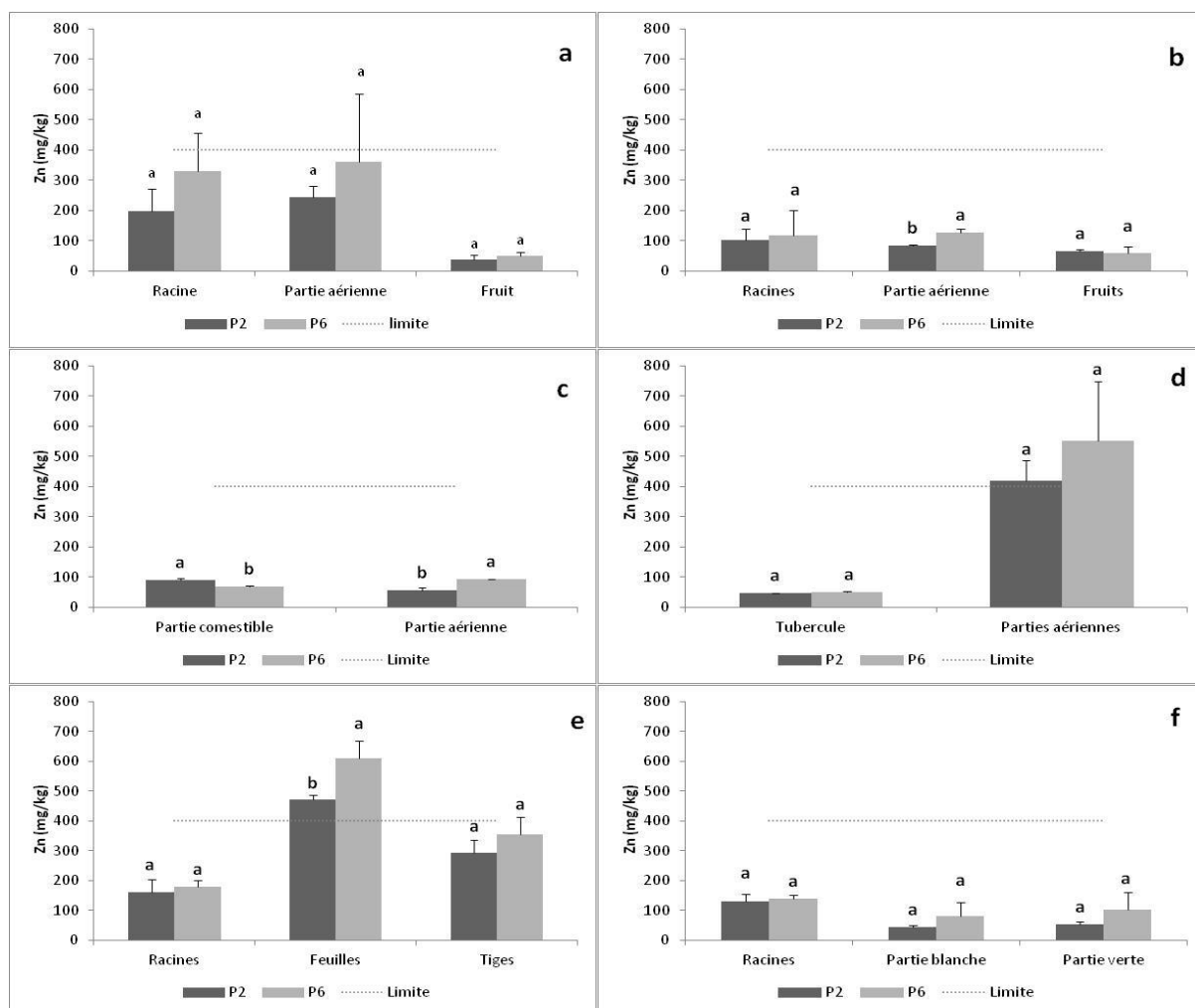


Figure 8. Concentration moyenne de Zn (matière fraîche) dans les différentes parties des plantes potagères (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus*, d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum*). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey.

### 2.3 Facteur de Transfert (FT) ou de Translocation

Les concentrations obtenues permettent de calculer le facteur de transfert ou translocation (FT) qui indique l'efficacité de la plante à transférer le métal accumulé de ses racines aux parties aériennes. Le facteur de transfert est calculé comme suit :  $FT = C_{aérienne} / C_{partie\ racinaire}$ . Une valeur  $\geq 1$  indique une translocation supérieure ou égale à la racine, et une valeur  $\leq 1$  indique une translocation supérieure à la racine par rapport à la partie aérienne (Audet et Charest 2008 ; Yoon *et al.* 2006). Le facteur de transfert n'a pas été abordé dans l'article 1, c'est la raison pour laquelle nous le présentons dans cette sous partie avec tous les traitements.

### 2.3.1 Les légumes fruits

**La tomate** (*Solanum lycopersicum L.*) : Le facteur de transfert (FT) racines vers feuilles des tomates est  $\geq 1$  quelle que soit la modalité de culture sauf pour le Cd et l'As mais uniquement sur le traitement P2 et P6. Le Ni, Pb et Zn ont des FT  $< 1$  dans le traitement association potagères - plantes phytostabilisatrice (P4). Le facteur de transfert des racines aux feuilles est dans l'ordre : Cu  $>$  Zn  $>$  Pb  $>$  Ni  $>$  As  $>$  Cd. En ce qui concerne la translocation des racines aux fruits (Fruits/racines), les facteurs de transfert les plus faibles ont été observés dans le cas du Pb et Zn et parmi les trois modalités de culture, et c'est dans la modalité P4 (potagères associées à des plantes phytostabilisatrices) que le transfert d'éléments dans les fruits a été le plus réduit. Le facteur de transfert des racines aux fruits est dans l'ordre suivant, Ni  $>$  As  $>$  Cu  $>$  Cd  $>$  Zn  $>$  Pb.

**Le haricot** (*Phaseolus vulgaris L.*) : Le facteur de transfert de Ni racines vers feuilles de haricot est le plus important ( $\geq 1$ ). Pour Pb seul, le traitement association plante potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) a un FT très bas. Le FT d'As est proche de l'unité quelle que soit la modalité de culture. Parmi les six éléments analysés, le FT le plus faible a été trouvé pour le Pb quel que soit le mode de culture, et le système association plante potagères - phytostabilisatrices (P4) a le facteur de translocation le plus réduit pour les éléments Cd, Cu, Pb et Zn. Le facteur de translocation racines vers feuilles est dans l'ordre suivant : Ni  $>$  Cd  $>$  Zn  $>$  As  $>$  Cu  $>$  Pb.

Dans le cas de la translocation des racines vers les fruits (fruits/racines), le FT le plus important enregistré dans les trois modalités de culture, concerne Ni, suivi de Cd plus particulièrement dans le traitement association potagères - plantes phytoextractrice (P6) puis par l'As principalement dans la placette monoculture (P2). Les autres éléments (Cu, Zn, Pb) ont des FT très inférieurs à l'unité. Le facteur de translocation des racines vers les fruits (fruit/racines) est dans l'ordre Ni  $>$  Cd  $>$  As  $>$  Cu  $>$  Zn  $>$  Pb.

Tableau 1: Facteur de transfert mesurés dans les légumes fruits (tomate et haricot). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices) et P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices).

	Placette	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Tomate	<b>Partie aérienne/racines</b>						
	P2	0,93±0,11 <sup>a</sup>	0,61±0,53 <sup>a</sup>	1,74±0,51 <sup>a</sup>	1,03±0,26 <sup>a</sup>	1,38±0,89 <sup>a</sup>	1,37±0,58 <sup>a</sup>
	P6	0,90±0,20 <sup>a</sup>	0,90±1,02 <sup>a</sup>	3,21±0,44 <sup>a</sup>	1,12±0,62 <sup>a</sup>	1,29±0,40 <sup>a</sup>	1,14±0,55 <sup>a</sup>
	P4	1,06±0,12 <sup>a</sup>	0,36±0,59 <sup>a</sup>	1,88±1,09 <sup>a</sup>	0,36±0,15 <sup>a</sup>	0,84±0,51 <sup>a</sup>	0,67±0,39 <sup>a</sup>
	<b>Fruit/partie racinaire</b>						
	P2	1,00±0,34 <sup>a</sup>	0,46±0,45 <sup>a</sup>	0,61±0,28 <sup>a</sup>	1,10±0,71 <sup>a</sup>	0,03±0,02 <sup>a</sup>	0,21±0,08 <sup>a</sup>
	P6	1,04±0,07 <sup>a</sup>	0,81±1,11 <sup>a</sup>	0,76±0,35 <sup>a</sup>	1,18±0,68 <sup>a</sup>	0,02±0,01 <sup>a</sup>	0,15±0,06 <sup>a</sup>
	P4	0,88±0,15 <sup>a</sup>	0,50±0,68 <sup>a</sup>	0,50±0,30 <sup>a</sup>	0,57±0,38 <sup>a</sup>	0,02±0,01 <sup>a</sup>	0,11±0,06 <sup>a</sup>
Haricot	<b>Partie aérienne/Partie racinaire</b>						
	P2	0,95±0,48 <sup>a</sup>	1,28±0,90 <sup>a</sup>	1,00±0,52 <sup>a</sup>	1,02±0,58 <sup>a</sup>	0,64±0,25 <sup>a</sup>	0,92±0,40 <sup>a</sup>
	P6	0,85±0,03 <sup>a</sup>	1,33±0,84 <sup>a</sup>	0,49±0,20 <sup>a</sup>	1,11±0,02 <sup>a</sup>	0,16±0,10 <sup>b</sup>	1,76±1,56 <sup>a</sup>
	P4	0,90±0,09 <sup>a</sup>	0,52±0,15 <sup>a</sup>	0,20±0,02 <sup>a</sup>	1,07±0,25 <sup>a</sup>	0,06±0,03 <sup>b</sup>	0,35±0,11 <sup>a</sup>
	<b>Fruit/partie racinaire</b>						
	P2	1,07±0,28 <sup>a</sup>	0,75±0,51 <sup>a</sup>	0,69±0,59 <sup>a</sup>	0,90±0,32 <sup>a</sup>	0,03±0,03 <sup>a</sup>	0,72±0,37 <sup>a</sup>
	P6	0,66±0,18 <sup>a</sup>	1,48±0,52 <sup>a</sup>	0,34±0,19 <sup>a</sup>	1,25±0,05 <sup>a</sup>	0,18±0,28 <sup>a</sup>	0,79±0,63 <sup>a</sup>
	P4	0,79±0,13 <sup>a</sup>	0,84±0,50 <sup>a</sup>	0,14±0,04 <sup>a</sup>	1,15±0,49 <sup>a</sup>	0,01±0,01 <sup>a</sup>	0,27±0,12 <sup>a</sup>

Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test de Tukey.

### 2.3.2 Les légumes racines

**Le radis (*Raphanus sativus*. L.)** : Le FT des métaux de la partie racinaire vers les feuilles est  $\geq 1$  dans le traitement association potagères - plantes phytoextractrice (P6) excepté pour le Zn. Dans le cas de la monoculture (P2), les FT de Pb et Zn sont  $\geq 1$ . En ce qui concerne le traitement P4 (association potagères - plantes phytostabilisatrices), le FT le plus important concerne le Pb (valeur 2,25). Le FT des racines vers les feuilles (feuilles/racines) est dans l'ordre : Pb > Ni > Zn > Cu > As > Cd.

**La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.)** : le FT des tubercules vers les feuilles est > 1 quelle que soit la modalité de culture sauf pour le Ni pour le traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) qui a un facteur de transfert <1 (0,65). Le FT le plus élevé a

été mesuré pour le Pb et le plus faible pour le Ni dans cette espèce. Les valeurs moyennes de FT de six métaux lourds peuvent être classés Pb > Zn > Cd > Cu > As > Ni.

Tableau 2: Les valeurs du facteur de transfert pour les légumes racines (radis et pomme de terre). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices) et P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices).

	Placette	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
<b>Radis</b>	<b>Partie aérienne/Partie racinaire</b>						
	P2	0,95±0,59 <sup>a</sup>	0,39±0,14 <sup>b</sup>	0,68±0,28 <sup>a</sup>	0,99±0,22 <sup>a</sup>	1,18±0,25 <sup>a</sup>	1,70±0,35 <sup>a</sup>
	P6	1,26±0,29 <sup>a</sup>	1,40±0,51 <sup>a</sup>	2,04±2,26 <sup>a</sup>	1,33±0,06 <sup>a</sup>	1,41±0,75 <sup>a</sup>	0,75±0,05 <sup>b</sup>
	P4	0,89±0,58 <sup>a</sup>	0,48±0,25 <sup>b</sup>	0,73±0,27 <sup>a</sup>	0,74±0,34 <sup>a</sup>	2,25±2,25 <sup>a</sup>	0,95±0,45 <sup>ab</sup>
<b>Pomme de terre</b>	<b>Partie aérienne/Partie racinaire</b>						
	P2	1,15±0,22 <sup>a</sup>	2,40±2,48 <sup>a</sup>	3,68±0,51 <sup>b</sup>	1,21±0,45 <sup>a</sup>	56,80±23,21 <sup>a</sup>	9,07±1,59 <sup>a</sup>
	P6	1,10±0,18 <sup>a</sup>	2,02±2,35 <sup>a</sup>	4,19±1,25 <sup>b</sup>	1,04±0,39 <sup>a</sup>	40,75±22,07 <sup>a</sup>	11,26±3,07 <sup>a</sup>
	P4	1,18±0,11 <sup>a</sup>	2,15±2,12 <sup>a</sup>	6,82±0,96 <sup>a</sup>	0,65±0,12 <sup>a</sup>	103,31±65,09 <sup>a</sup>	10,02±3,28 <sup>a</sup>

Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test de Tukey.

### 2.3.3 Les légumes feuilles

**L'épinard** (*Spinacia oleracea L.*) : Le FT racines vers feuilles (feuilles/racines) est > 1 pour le Ni et Zn quelle que soit la modalité de culture. En ce qui concerne le Cu, les FT > 1 ont été observés uniquement dans les placettes (P4 et P6) et pour l'As dans la placette monoculture (P2). Les facteurs de transfert les plus faibles pour cette plante concernent le Pb et Cd (FT < 1). Le FT racines vers feuilles est dans l'ordre suivant Zn > Ni > Cu > As > Cd > Pb. Concernant la translocation racines vers tiges (tiges/racines), le FT le plus important est mesuré avec Zn dans les trois modalités de culture, suivi de Ni, plus particulièrement dans la placette association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) et pour l'As principalement dans la placette monoculture (P2). Les autres éléments (Cd, Cu, Pb) ont des FT très inférieurs à 1. Le facteur de translocation des racines vers tiges (tiges/racines) est dans l'ordre suivant : Zn > Ni > As > Cd > Cu > Pb.

**Le poireau** (*Allium porrum L.*) : Le FT des éléments des racines vers la partie non chlorophyllienne (partie blanche/racines) est < 1 pour As, Cu, Pb et Zn quelle que soit la



modalité de culture. Les valeurs de FT les plus importantes ont été trouvées dans la placette monoculture (P2) pour Cd (FT > 1) et dans les placettes monoculture (P2) et association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) pour Ni. Le FT des racines vers parties blanches (partie blanche/racines) est classé dans l'ordre Ni > Cd > As > Zn > Cu > Pb. Dans le cas de la translocation des racines vers les parties vertes (parties vertes/racines), le FT < 1 pour Cu, Pb et Zn quelle que soit la modalité de culture. Par contre le FT de Cd est très supérieur à 1 (2,15) dans la placette monoculture (P2), et supérieur à 1 pour As et Ni.

Tableau 3: Valeurs du facteur de transfert pour les légumes feuilles (épinard et poireau). P2 (Potagères seules), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices) et P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices).

	Placette	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
<b>Epinaud</b>	<b>Feuille/racines</b>						
	P2	1,14±0,18 <sup>a</sup>	0,74±0,26 <sup>a</sup>	0,89±0,45 <sup>a</sup>	1,17±1,06 <sup>a</sup>	0,23±0,21 <sup>a</sup>	3,08±0,79 <sup>a</sup>
	P6	0,61±0,26 <sup>b</sup>	0,78±0,51 <sup>a</sup>	1,07±0,84 <sup>a</sup>	1,27±0,44 <sup>a</sup>	0,40±0,22 <sup>a</sup>	3,43±0,61 <sup>a</sup>
	P4	0,72±0,10 <sup>ab</sup>	0,46±0,23 <sup>a</sup>	1,25±0,32 <sup>a</sup>	1,02±0,46 <sup>a</sup>	0,37±0,20 <sup>a</sup>	2,69±0,49 <sup>a</sup>
	<b>Tiges/racines</b>						
	P2	1,05±0,16 <sup>a</sup>	0,78±0,24 <sup>a</sup>	0,64±0,30 <sup>a</sup>	0,95±0,87 <sup>a</sup>	0,32±0,18 <sup>a</sup>	1,91±0,58 <sup>a</sup>
	P6	0,69±0,37 <sup>a</sup>	1,04±0,85 <sup>a</sup>	0,91±0,79 <sup>a</sup>	0,88±0,53 <sup>a</sup>	0,71±0,49 <sup>a</sup>	1,96±0,13 <sup>a</sup>
	P4	0,69±0,09 <sup>a</sup>	0,45±0,21 <sup>a</sup>	0,82±0,21 <sup>a</sup>	1,09±0,17 <sup>a</sup>	0,50±0,17 <sup>a</sup>	1,69±0,30 <sup>a</sup>
	<b>Poireau</b>	<b>Partie blanche/racines</b>					
P2		0,87±0,21 <sup>a</sup>	1,65±2,37 <sup>a</sup>	0,15±0,12 <sup>ab</sup>	1,10±0,33 <sup>ab</sup>	0,11±0,01 <sup>a</sup>	0,35±0,08 <sup>a</sup>
P6		0,92±0,05 <sup>a</sup>	0,53±0,25 <sup>a</sup>	0,05±0,02 <sup>b</sup>	0,60±0,20 <sup>b</sup>	0,06±0,02 <sup>a</sup>	0,57±0,32 <sup>a</sup>
P4		0,61±0,19 <sup>a</sup>	0,73±0,24 <sup>a</sup>	0,31±0,13 <sup>a</sup>	1,64±0,51 <sup>a</sup>	0,32±0,29 <sup>a</sup>	0,44±0,10 <sup>a</sup>
<b>Partie verte/racines</b>							
P2		1,06±0,50 <sup>a</sup>	2,15±2,17 <sup>a</sup>	0,16±0,14 <sup>b</sup>	1,51±0,31 <sup>a</sup>	0,15±0,20 <sup>a</sup>	0,40±0,02 <sup>a</sup>
P6		1,08±0,12 <sup>a</sup>	1,05±0,49 <sup>a</sup>	0,08±0,03 <sup>b</sup>	0,82±0,07 <sup>a</sup>	0,06±0,06 <sup>a</sup>	0,74±0,41 <sup>a</sup>
P4		0,80±0,11 <sup>a</sup>	0,38±0,25 <sup>a</sup>	0,50±0,05 <sup>a</sup>	1,44±0,46 <sup>a</sup>	0,30±0,12 <sup>a</sup>	0,67±0,10 <sup>a</sup>

Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test de Tukey.

### 2.3.4 Les espèces phytoextractrices et phytostabilisatrices

Ces résultats soulignent la capacité de ces espèces à transférer les éléments traces des racines vers les parties aériennes. Pour le cas des plantes extractrices, on a mesuré un FT de Cd, Cu, Ni, Zn supérieurs à 1 pour le *Brassica juncea* et par un facteur de transfert < 1 pour As et Pb. Pour *Sinapis alba* on mesure un TF >1 pour As, Cd et Zn, et pour *Aurinia saxatilis* un TF > 1 pour As, Cu, Ni et Zn. Le facteur de transfert le plus faible a été détecté pour Pb quelle que soit l'espèce.

En ce qui concerne les espèces phytostabilisatrices, pour *Lolium perenne* a enregistré un FT > 1 pour As et pour Ni avec *Medicago sativa*. Le facteur de transfert le plus faible a été trouvé chez *Trifolium repens* pour les six éléments. Parmi ces six éléments, le Pb est le moins mobile quelle que soit l'espèce. Le facteur de transfert des racines aux parties aériennes cultivés était de l'ordre de *Medicago sativa* > *Lolium perenne* > *Trifolium repens*.

Tableau 4: Les valeurs du facteur de transfert pour les espèces phytoextractrices et phytostabilisatrices (Partie aérienne/Partie racinaire).

Espèces	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
<b>Phytoextractrices (P5)</b>						
<i>Brassica juncea</i>	0.94±0,06 <sup>a</sup>	1.57±0,81 <sup>a</sup>	1.02±0,17 <sup>ab</sup>	1.57±0,80 <sup>a</sup>	0.07±0,04 <sup>b</sup>	1.51±0,25 <sup>a</sup>
<i>Sinapis alba</i>	1.22±0,42 <sup>a</sup>	2,11±1,42 <sup>a</sup>	0,76±0,62 <sup>b</sup>	0.93±0,27 <sup>a</sup>	0.08±0,07 <sup>b</sup>	1.98±0,67 <sup>a</sup>
<i>Aurinia saxatilis</i>	1.43±0,14 <sup>a</sup>	0.85±0,47 <sup>a</sup>	2,01±0,54 <sup>a</sup>	1,42±0,61 <sup>a</sup>	0.62±0,16 <sup>a</sup>	1.30±0,23 <sup>a</sup>
<b>Phytostabilisatrices (P3)</b>						
<i>Medicago sativa</i>	0.97±0,14 <sup>a</sup>	1,48±1,58 <sup>a</sup>	0.96±0,15 <sup>a</sup>	1,30±0,67 <sup>a</sup>	0.83±0,20 <sup>a</sup>	0.95±0,09 <sup>a</sup>
<i>Lolium perenne</i>	1,00±0,12 <sup>a</sup>	0,92±0,46 <sup>a</sup>	0,14±0,07 <sup>b</sup>	0.86±0,35 <sup>a</sup>	0.06±0,05 <sup>b</sup>	0.31±0,09 <sup>b</sup>
<i>Trifolium repens</i>	0,69±0,28 <sup>a</sup>	0,54±0,67 <sup>a</sup>	0,32±0,13 <sup>b</sup>	0,61±0,35 <sup>a</sup>	0,24±0,35 <sup>ab</sup>	0,32±0,16 <sup>b</sup>

Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test de Tukey.

## 2.4 Quantités totales en éléments traces extraites par les plantes

Afin de savoir quelle quantité totale de métal a pu être accumulée dans la plante, nous avons déterminé les Quantités totales en éléments:  $C_{\text{plant}} \times M_{\text{plant}}$ ; où  $C_{\text{plant}}$  est la concentration du métal dans l'organe de la plante ( $\text{mg.kg}^{-1}$  MS) et  $M_{\text{plant}}$  est la biomasse sèche de la plante d'une sous-parcelle. Dans l'article 1, nous avons exprimé les teneurs en éléments traces en concentrations.

## Arsenic

Les concentrations totales extraites en As par les différentes espèces utilisées tant au niveau des racines qu'au niveau de l'appareil végétatif sont illustrées dans la figure 9. Pour les plantes potagères, des différences significatives ont été mesurées au niveau des parties comestibles du haricot et de l'épinard (Fig. 9b et e) mais aussi dans les plantes phytoextractrices (Fig. 9g). En ce qui concerne le haricot (Fig. 9b), on observe la concentration totale en As la plus élevée dans la partie comestible dans la parcelle monoculture (P2) ( $119,42 \pm 68,82$  mg MS), alors que les concentrations mesurées dans les deux associations (P4 et P6) sont similaires. En ce qui concerne l'épinard (Fig. 9e), nous avons mesuré au niveau de la partie comestible sur placette monoculture, la teneur en As la plus élevée ( $108,99 \pm 16,97$  mg/kg MS), suivie par celle du traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices ( $70,16 \pm 2,41$  mg/kg MS) puis par celle de l'association potagères - plantes phytoextractrices ( $55,51 \pm 24,59$  mg/kg MS As).

Aucune différence significative n'a été détectée dans les autres organes pour le haricot et l'épinard (Fig. 9b et e) entre les modalités de culture. En ce qui concerne les parties racinaires et aériennes des plantes phytoextractrices (Fig. 9g), la corbeille d'or (*Aurina saxatilis* L.) présente la concentration la plus importante  $126,6 \pm 29,27$  mg kg<sup>-1</sup> MS (racines) et  $575,93 \pm 124,84$  mg kg<sup>-1</sup> (partie aérienne), alors que la moutarde brune (*Brassica juncea* L.), ( $40,75 \pm 2,22$  et  $190,04 \pm 13,65$  mg kg<sup>-1</sup>) et la moutarde blanche (*Sinapis alba* L.) ( $50,45 \pm 6,43$  et  $322,85 \pm 109,00$  mg kg<sup>-1</sup>) présentent des concentrations similaires.

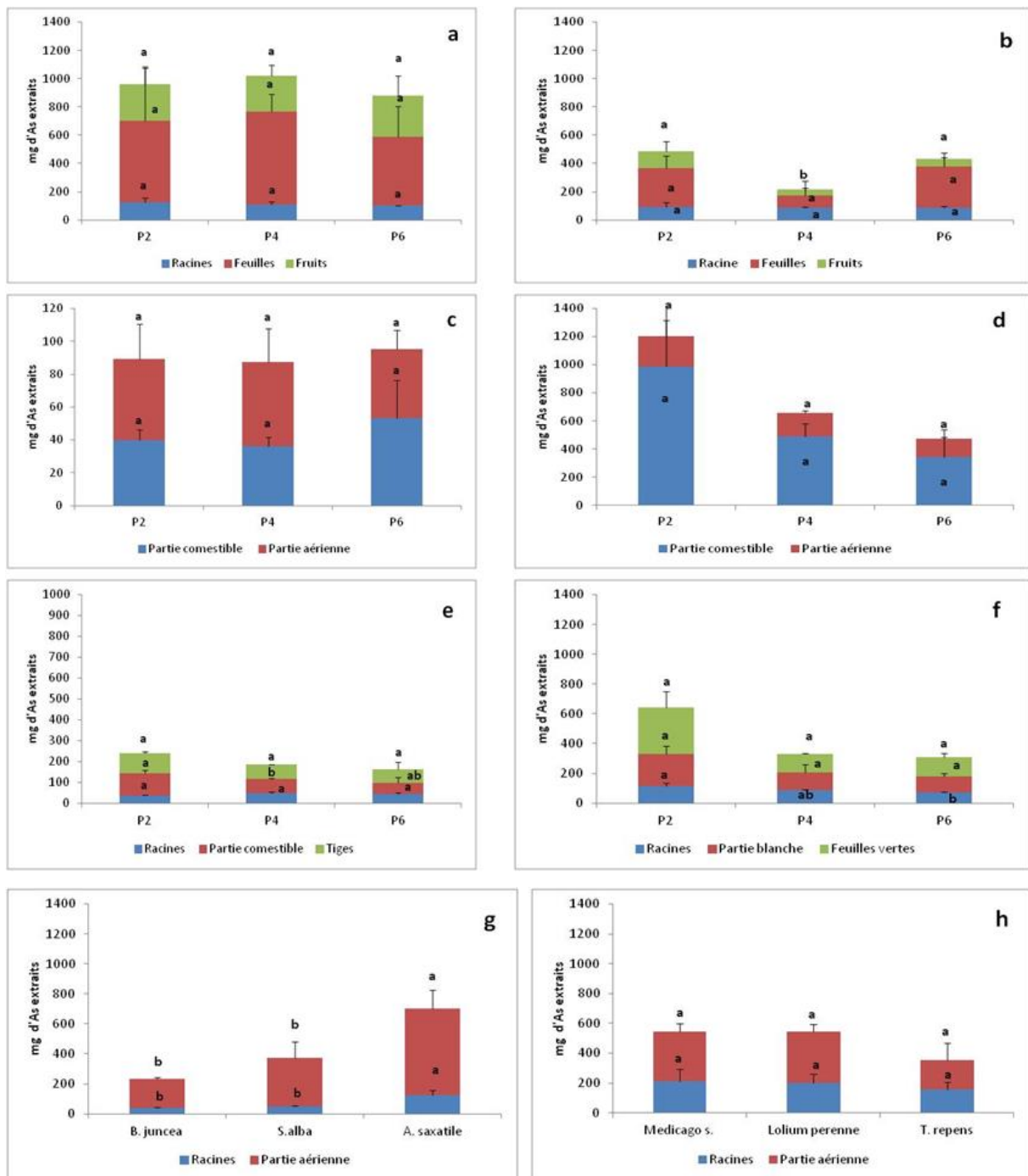


Figure 9. Quantités totales extraites en As par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus* , d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices ), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices ), g : Plantes phytoextractrices (*Brassica juncea* , *Sinapis alba* et *Alysse saxatile*), h : Plantes phytostabilisatrices (*Medicago sativa*, *Lolium perenne* et *Trifolium repens*). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey.

## Cadmium

Les concentrations totales de Cd extraites des organes végétaux sont présentées dans la figure 10. Les concentrations en Cd (Fig. 10a, b, c, d, e et h) étaient généralement similaires-dans les racines et les parties aériennes quelle que soit l'espèce ou le mode de culture. Mais au niveau des racines de poireau (*Allium porrum. L.*) (Fig. 10f) la valeur la plus élevée a été mesurée sur la placette association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4)  $39,08 \pm 6,7 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ , suivie par celle du traitement association potagères - plantes phytoextractrices (P6)  $21,35 \pm 9,93 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$  et en dernier par monoculture (P2)  $8,15 \pm 8,43 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ . Concernant la partie verte des feuilles de la cette espèce, on a mesuré sur placette monoculture (P2) la concentration la plus élevée  $122,60 \pm 44,48 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$  tandis que les valeurs mesurées sur les parcelles en association (P5 et P6) sont similaires. Concernant les parties racinaires des plantes phytoextractrices (Fig. 10g), on a mesuré sur la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*) la concentration de Cd la plus importante ( $64,27 \pm 18,92 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ), alors que sur la moutarde brune (*Brassica juncea L.*) et la moutarde blanche (*Sinapis alba L.*) les valeurs sont similaires ( $8,35 \pm 4,26$  et  $10,85 \pm 4,84 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ).

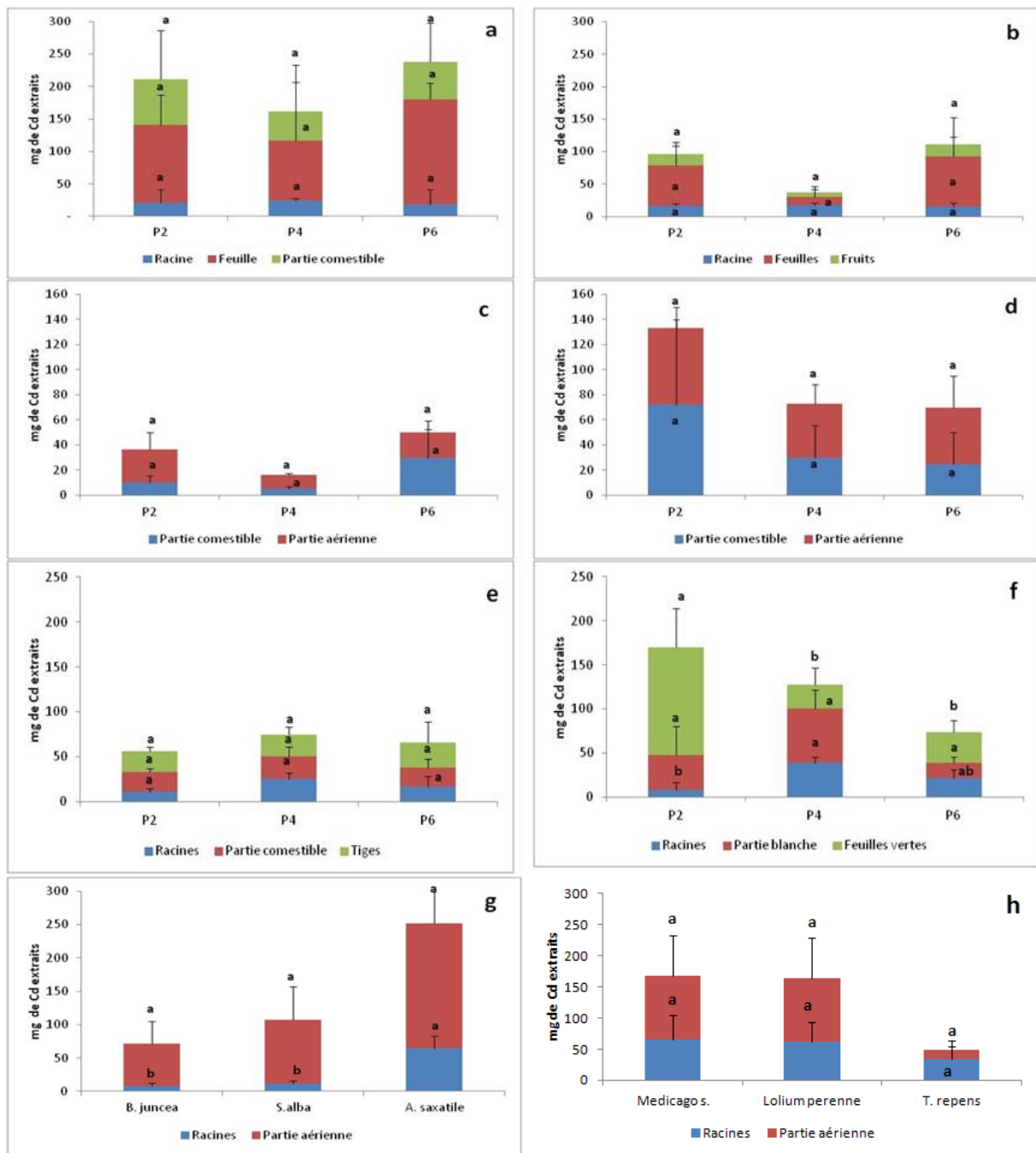


Figure 10. Quantités totales extraites en Cd par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus*, d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices ), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices ), g : Plantes phytoextractrices (*Brassica juncea* , *Sinapis alba* et *Alysse saxatile*), h : Plantes phytostabilisatrices (*Medicago sativa*, *Lolium perenne* et *Trifolium repens*). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey

## Cu

Généralement, les concentrations extraites en Cu (Fig. 11a, d, e, g et h) étaient presque identiques dans les racines et les parties aériennes quelle que soit l'espèce ou le mode de culture. Cependant, pour le haricot, nous avons mesuré au niveau de la partie comestible sur placette monoculture (P2) figure 11b, la quantité en cuivre la plus élevée  $140,33 \pm 69,30 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ , suivie par celle du traitement association potagères - plantes phytoextractrices (P6)  $131,18 \pm 88,06 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$  puis par l'association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) qui a absorbé  $64,39 \pm 39 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$  de cuivre. Pour la partie aérienne du radis (Fig. 11c), la monoculture (P2) correspond à la concentration la plus importante  $71,43 \pm 17,73 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ , suivie par celle du traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4)  $54,12 \pm 16,56 \text{ mg kg}^{-1} \text{MS}$  puis par le traitement association potagères - plantes phytoextractrices (P6)  $31,35 \pm 7,03 \text{ mg kg}^{-1} \text{MS}$ .

En ce qui concerne le poireau (*Allium porrum. L.*) (Fig. 11f), nous avons mesuré au niveau des racines sur placette association potagères - plantes phytoextractrices (P6) la concentration extraite la plus élevée  $1029,35 \pm 176,75 \text{ mg kg}^{-1} \text{MS}$ , suivie par la monoculture (P2)  $698,59 \pm 361,45 \text{ mg kg}^{-1} \text{MS}$  puis par le traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4)  $161,34 \pm 92,48 \text{ mg kg}^{-1} \text{MS}$  le plus faible en Cu.

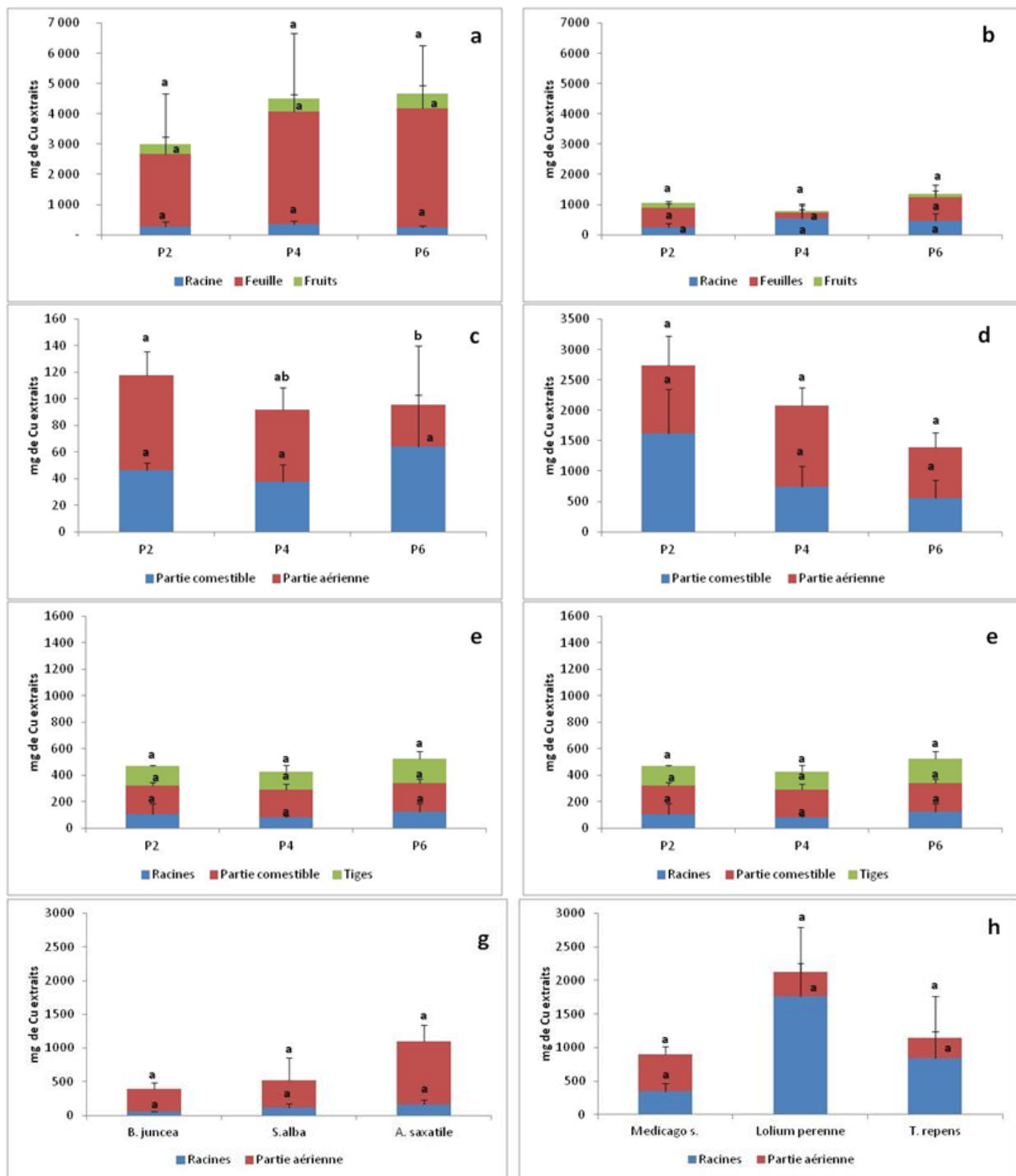


Figure 11. Quantités totales extraites en Cu par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus*, d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices ), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices ), g : Plantes phytoextractrices (*Brassica juncea* , *Sinapis alba* et *Alysse saxatile*), h : Plantes phytostabilisatrices (*Medicago sativa*, *Lolium perenne* et *Trifolium repens*). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey



## Nickel

Généralement, il n'y a pas de différences significatives au niveau des racines et de l'appareil végétatif quelle que soit le mode de culture ou l'espèce cultivée (figure 12a, c, d, e et h). Par contre, le poireau (*Allium porrum. L.*), le haricot (*Phaseolus vulgaris L.*) et les plantes phytoextractrices (Fig. 12b, f et h) présentent des différences significatives. En ce qui concerne le haricot (*Phaseolus vulgaris L.*) (Fig. 12b), pour le traitement monoculture (P2), on a enregistré la concentration en Ni la plus importante  $128,25 \pm 26$  mg kg<sup>-1</sup>MS, puis dans l'association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4)  $104,92 \pm 6,73$  mg kg<sup>-1</sup>MS et enfin dans le traitement association potagères - plantes phytoextractrices (P6)  $80,84 \pm 6,90$  mg kg<sup>-1</sup>MS. Pour la partie aérienne de cette espèce, nous avons mesuré sur placette monoculture (P2), la quantité la plus importante ( $402,96 \pm 93,35$  mg kg<sup>-1</sup>MS), suivie par le traitement association potagères - plantes phytoextractrices P6 ( $346,01 \pm 82,68$  mg kg<sup>-1</sup>MS) et en dernier le traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices P4 ( $102,63 \pm 119,29$  mg kg<sup>-1</sup>MS). Sur le traitement monoculture et pour la partie comestible on a enregistré la quantité totale la plus importante ( $135,83 \pm 46,58$  mg kg<sup>-1</sup>MS), suivie par le traitement association potagères - plantes phytoextractrices ( $98,11 \pm 54,48$  mg kg<sup>-1</sup>MS) et en dernier le traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices ( $71,90 \pm 42,08$  mg kg<sup>-1</sup>MS). En ce qui concerne le poireau (*Allium porrum. L.*) (Fig. 12f), nous avons mesuré au niveau de la partie verte de la feuille sur la placette monoculture (P2), la quantité en Ni la plus élevée ( $420,19 \pm 112,31$  mg kg<sup>-1</sup>MS), suivie par celle du traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices ( $261,09 \pm 121,77$  mg kg<sup>-1</sup>MS) et enfin dans l'association potagères - plantes phytoextractrices ( $168,25 \pm 10,78$  mg kg<sup>-1</sup>MS de Cu. Les autres organes de cette espèce présentent des concentrations similaires. Dans la partie racinaire des plantes phytoextractrices (Fig. 12g), la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*) correspond à la concentration totale la plus importante ( $196,11 \pm 64$  mg kg<sup>-1</sup>MS), alors que la moutarde brune (*Brassica juncea L.*) et la moutarde blanche (*Sinapis alba L.*) présentent des concentrations similaires. Pour les autres organes il n'y a pas de différences significatives.

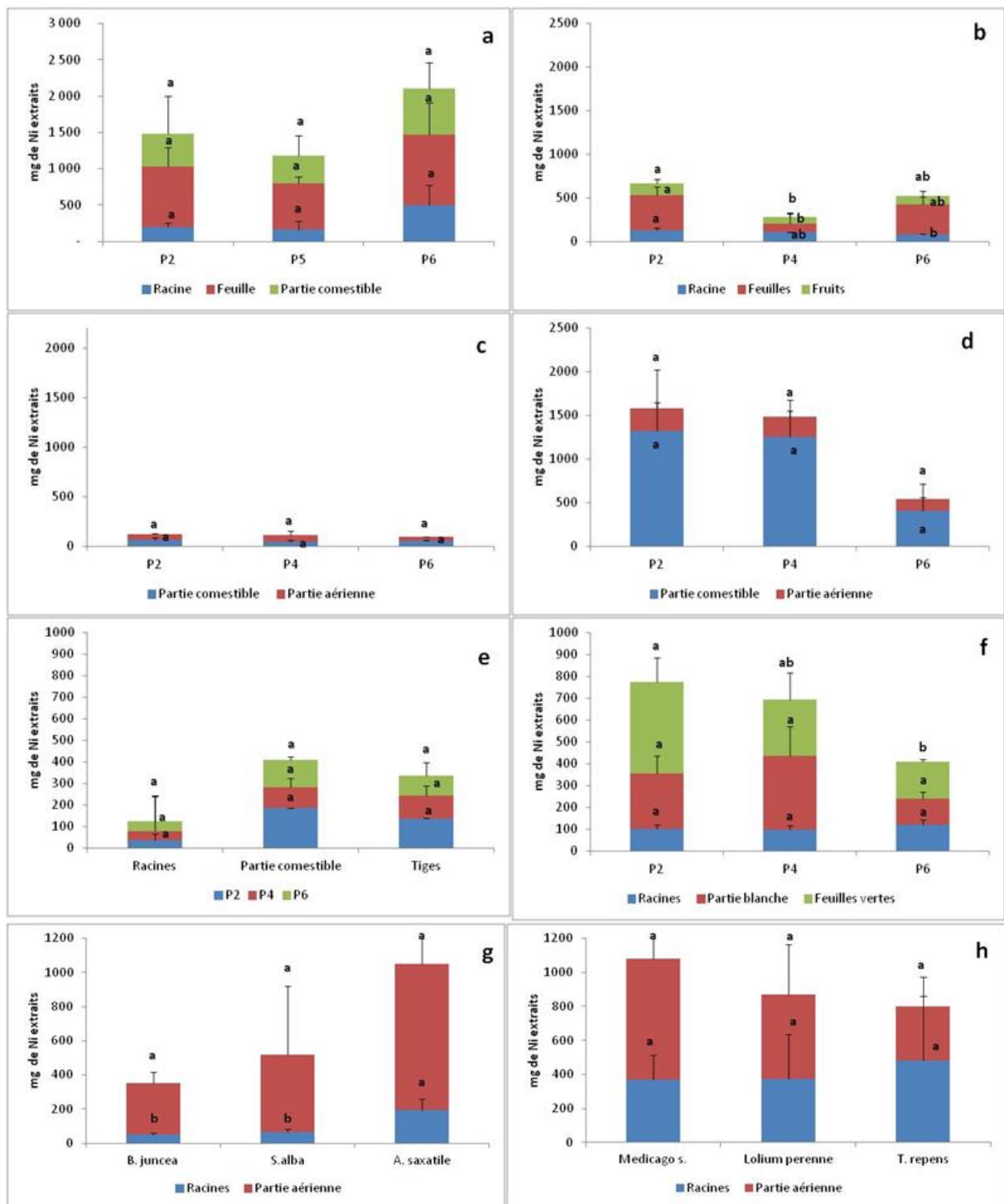


Figure 12. Quantités totales extraites en Ni par les différentes plantes potagères et phytoextractrices (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus* , d : *Solanum tuberosum* , e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices ), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices ), g : Plantes phytoextractrices (*Brassica juncea* , *Sinapis alba* et *Alysse saxatile*), h : Plantes phytostabilisatrices (*Medicago sativa*, *Lolium perenne* et *Trifolium repens*). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey

## Plomb

Les concentrations extraites en Pb (Fig. 13b, d, e et h) étaient généralement similaires dans les racines et les parties aériennes quelle que soit l'espèce ou le mode de culture. Cependant, les concentrations de plomb extraites au niveau des racines chez la tomate (*Solanum lycopersicum L.*), le radis (*Raphanus sativus. L.*) et le poireau (*Allium porrum. L.*) (Fig. 13 a, c et f) montrent des différences selon le mode de culture.

Pour la tomate (*Solanum lycopersicum L.*) (Fig. 13a), nous avons mesuré au niveau de la partie racinaire sur la placette association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4), la quantité en plomb la plus élevée ( $934,46 \pm 281,09 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ), suivie par celle du traitement association potagères - plantes phytoextractrices P6 ( $677,89 \pm 114,95 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) et la monoculture (P2) la plus faible ( $364,30 \pm 57,88 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ). Pour les autres organes de cette espèce, aucune différence significative n'a été observée. En ce qui concerne le radis (*Raphanus sativus. L.*) dans les deux organes (Fig. 13c), nous avons enregistré la concentration en Pb la plus élevée sur placette monoculture (P2), suivie par celle du traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) puis par dans le traitement association potagères - plantes phytoextractrices (P6). Concernant la partie racinaire de poireau (*Allium porrum. L.*) (Fig. 13f), on a mesuré sur placettes monoculture (P2) et association potagères- plantes phytoextractrices (P6) des concentrations similaires ( $345,74 \pm 124,53$  et  $346,59 \pm 73,36 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) tandis que la valeur mesurée sur la parcelle en association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) est la plus faible ( $57,71 \pm 32,50 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ). Des différences significatives n'ont pas été détectées dans la partie blanche et verte des feuilles (Fig. 13f). Pour ce qui est des plantes phytoextractrices (Fig. 13g), on a mesuré dans la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*) les concentrations en Pb les plus importantes tant au niveau des racines que de la partie aérienne, alors que pour la moutarde brune (*Brassica juncea L.*) et la moutarde blanche (*Sinapis alba L.*), les valeurs sont similaires quel que soit l'organe analysé.

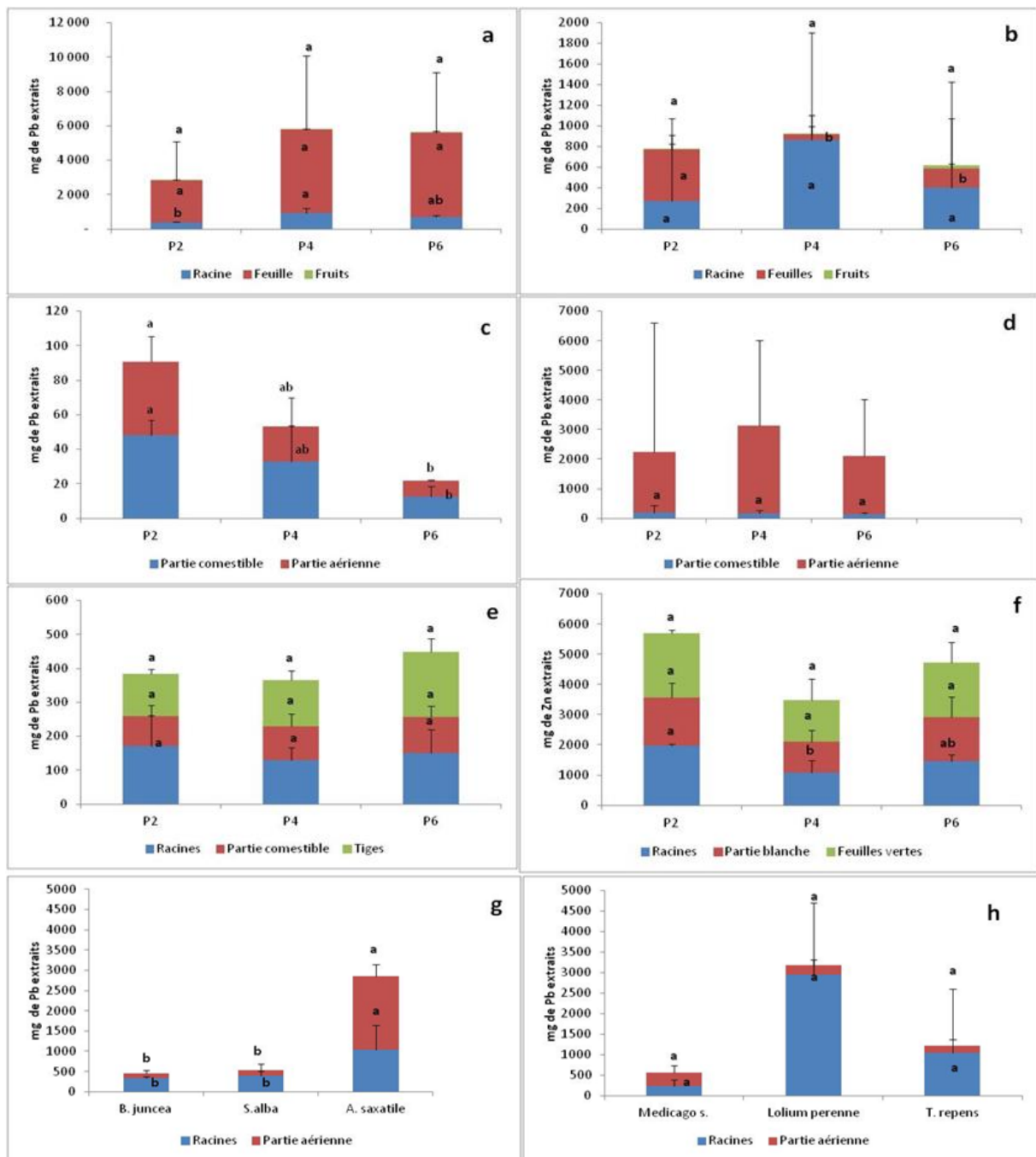


Figure 13. Quantités totales extraites en Pb par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus*, d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices ), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices ), g : Plantes phytoextractrices (*Brassica juncea* , *Sinapis alba* et *Alysse saxatile*), h : Plantes phytostabilisatrices (*Medicago sativa*, *Lolium perenne* et *Trifolium repens*). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à P ≤ 0,05 selon le test t de Tukey.

## Zinc

La figure 14 présente les concentrations en Zn mesurées dans les plantes potagères et phytoremédiantes. La tomate (*Solanum lycopersicum L.*) et la pomme de terre (*Solanum tuberosum L.*) (Fig. 14a et d) ne présentent pas de différences significatives entre les trois modalités de culture quel que soit l'organe analysé.

Par contre pour le haricot (*Phaseolus vulgaris L.*), le radis (*Raphanus sativus. L.*), l'épinard (*Spinacia oleracea L.*), le poireau (*Allium porrum. L.*) et les plantes phytoremédiantes (Fig. 14b, c, e, f, g et h), des différences significatives ont été observées entre les organes.

Nous avons mesuré au niveau de la partie aérienne du haricot sur placette association potagères - plantes phytoextractrices P6 (Fig. 14b) la teneur en zinc la plus élevée ( $5531,04 \pm 1676,07 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ), suivie par celle du traitement monoculture P2 ( $3946,82 \pm 376,13 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) puis celle du traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices P4 ( $1098,17 \pm 11576,12 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ). En ce qui concerne la partie comestible de la même espèce, le traitement monoculture (P2) correspond à la concentration la plus importante ( $1071,78 \pm 297,28 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ), alors que dans les traitements association potagères - plantes phytoextractrices (P6) et association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) présentent des concentrations similaires. En ce qui concerne le radis (*Raphanus sativus. L.*) (Fig. 14c), au niveau de la partie comestible, nous avons mesuré sur placette monoculture (P2) la teneur la plus importante ( $667,91 \pm 66,26 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ), suivie par celle du traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices P4 ( $577,43 \pm 215,25 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) et en dernier l'association potagères - plantes phytoextractrices P6 ( $328,38 \pm 10,57 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ). Au niveau des feuilles de cette espèce (Fig. 14c), nous constatons que dans le traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices (P4) on a enregistré la quantité totale la plus élevée ( $644,60 \pm 91,81 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) par rapport à la monoculture (P2) et à l'association potagères - plantes phytoextractrices (P6) qui sont similaires. Pour ce qui est de l'épinard (*Spinacia oleracea L.*) (Fig. 14e), aucune différence significative n'a été détectée au niveau des racines. Par contre au niveau de la partie comestible de cette espèce, nous avons mesuré sur la placette monoculture (P2) la teneur la plus importante ( $7233,00 \pm 819,73 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ), suivie du traitement association potagères - plantes phytoextractrices P6 ( $6386,24 \pm 1211, \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) et enfin le traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices P4 ( $4861,64 \pm 153,64 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ). Concernant les tiges, sur la placette monoculture on a enregistré la quantité la plus importante ( $4357,78 \pm 554,46 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ), suivie par celle du traitement association potagères

- plantes phytoextractrices ( $3866,82 \pm 571,34 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) et enfin sur l'association potagères - plantes phytostabilisatrices ( $3077,66 \pm 159,69 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ). Dans les racines de poireau (Fig. 14f), on a enregistré la concentration en Zn la plus importante ( $1971,18 \pm 58,95 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) dans le traitement monoculture (P2), suivi par l'association potagères - plantes phytoextractrices P6 ( $1470,26 \pm 214,35 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) et enfin l'association potagères - plantes phytostabilisatrices P4 ( $1081,15 \pm 397,76 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ). Pour les autres organes de cette espèce, aucune différence significative n'a été détectée. Concernant les plantes phytoextractrices (Fig. 14g), on a mesuré sur la moutarde blanche (*Sinapis alba L.*) la concentration la plus élevée dans la partie aérienne ( $18375,91 \pm 3894,45 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) tandis que les valeurs mesurées sur la moutarde brune (*Brassica juncea L.*) et la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*) sont similaires. Concernant les parties racinaires des plantes phytoextractrices (Fig. 14g), aucune différence significative n'a été observée quelle que soit la plante. En ce qui concerne les plantes phytostabilisatrices (Fig. 14g), on constate qu'au niveau des racines, on a enregistré la concentration en Zn la plus élevée sur le Raygrass (*Lolium perenne L.*) ( $1616,14 \pm 8246,14 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ), suivie par le trèfle blanc (*Trifolium repens L.*) ( $4777,14 \pm 3918,78 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) et en dernier par la luzerne (*Medicago sativa L.*) ( $1855,46 \pm 261,66 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ). La partie aérienne du Raygrass (*Lolium perenne L.*) a accumulé le plus de Zn ( $8117,55 \pm 1894,12 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ) alors que les valeurs mesurées sur *Medicago sativa* et le trèfle blanc (*Trifolium repens L.*) sont identiques.

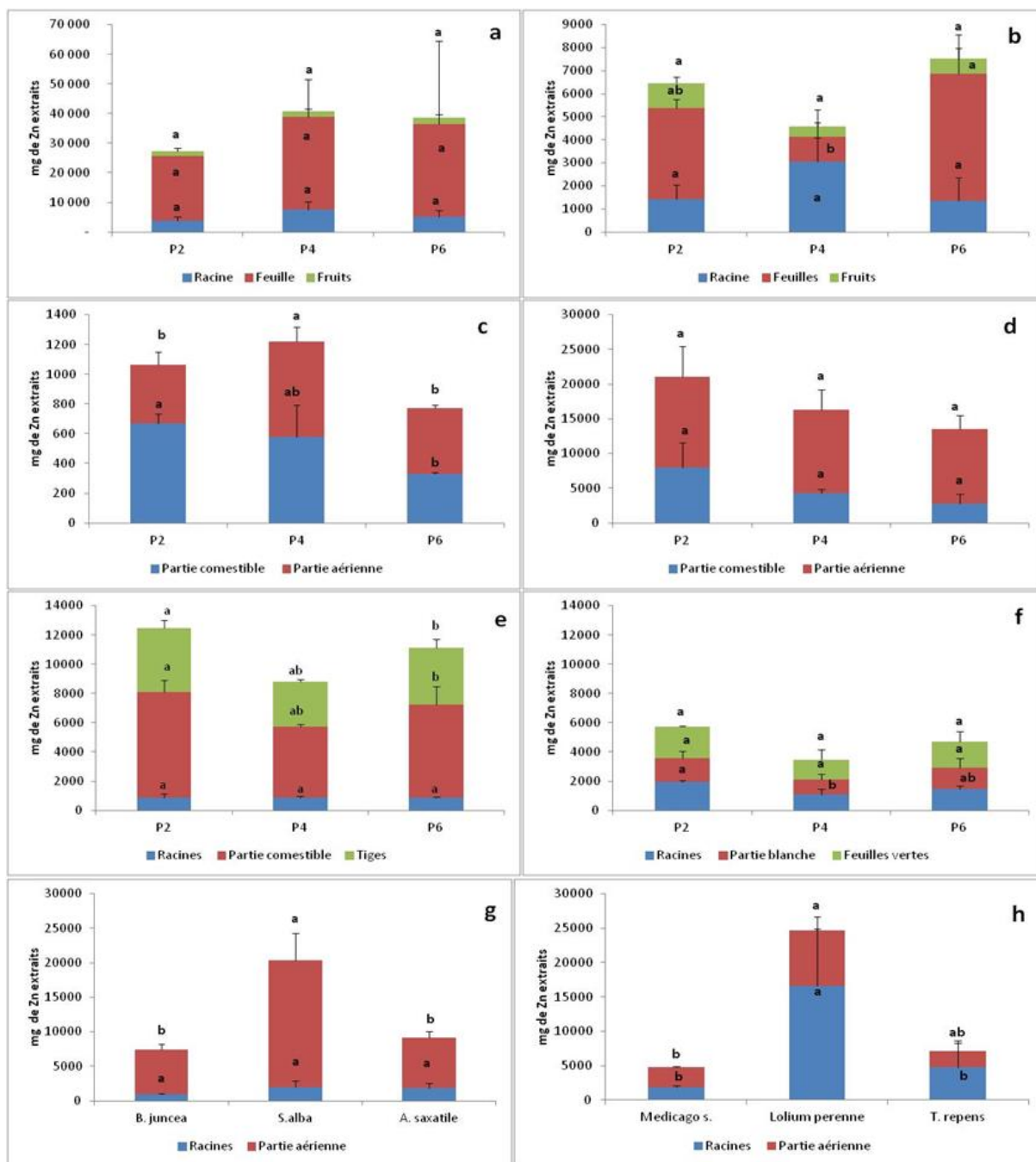


Figure 14. Quantités totales extraites en Zn par les différentes plantes potagères et phytoremédiantes (a : *Solanum lycopersicum* , b : *Phaseolus vulgaris* , c : *Raphanus sativus*, d : *Solanum tuberosum*, e : *Spinacia oleracea* et f : *Allium porrum* ). P2 (Potagères seules), P4 (plantes potagères associées à des plantes phytostabilisatrices ), P6 (Plantes potagères associées à des plantes phytoextractrices ), g : Plantes phytoextractrices (*Brassica juncea* , *Sinapis alba* et *Alysse saxatile*), h : Plantes phytostabilisatrices (*Medicago sativa*, *Lolium perenne* et *Trifolium repens*). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à  $P \leq 0,05$  selon le test t de Tukey.

### 3 Discussion partielle (n°1)

#### 3.1 Biomasse de plantes phytoremédiantes

Une plante hyperaccumulatrice est l'un des critères les plus importants de la phytoremédiation suivie d'une plante à forte production de biomasse aérienne. Pour une phytoextraction réussie, il est nécessaire d'utiliser des plantes ayant une croissance rapide (biomasse potentielle la plus élevée et réponses nutritives les plus élevées) et à forte accumulation des métaux (Atul *et al.*, 2012). Les plantes phytoextractrices (Figure 1), la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*) a produit la plus grande biomasse suivie par la moutarde brune (*Brassica juncea L.*) et la moutarde blanche (*Sinapis alba L.*) dans les deux organes (partie racinaire et partie aérienne). L'étude menée par Kumar *et al.*, (2019) sur la culture *B. juncea* dans un sol contaminé par le Cd et Pb, la biomasse sèche enregistrée a été plus dans les parties aériennes que racinaires ( $29,46 \pm 2,83$ ,  $5,90 \pm 0,43$ g/kg). Nos observations sont en accord avec celles de Kumar *et al.*, (2019). La présence des éléments traces dans notre sol cultivé n'a pas eu un impact significatif sur le développement des plantes. Ceci pourrait laisser supposer une plus grande vigueur chez la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*).

#### 3.2 Concentrations des éléments traces accumulées par les phytoextractrices (P5)

L'objectif était de confirmer le comportement attendu de ces espèces phytoextractrices et d'évaluer leur efficacité en phytoremédiation. Selon Bert (2010), pour qu'une plante soit considérée comme phytoextractrice, la plante doit absorber les polluants du sol par les racines et les stocker dans la biomasse aérienne avec surtout un facteur de transfert (FT >1). De nombreuses études ont montré que les plantes de *Brassica juncea*, *Sinapis alba* et d'*Aurina saxatilis* sont considérées comme candidates idéales pour la phytoextraction et ont donc été testées dans cette étude (Angelova *et al.*, 2008 ; Faucoult *et al.*, 2013 ; Armas *et al.*, 2015 ; Sharma *et al.*, 2016).

Nous avons constaté que les concentrations dans les feuilles et racines diffèrent selon l'élément et l'espèce. Nos résultats montrent que le cuivre et le plomb (Figure 2) sont beaucoup plus présents dans les racines de Moutarde blanche (*Sinapis alba*) que dans leurs feuilles et vice versa pour la Moutarde brune (*Brassica juncea*). La Moutarde brune (*Brassica juncea*) est considérée comme une plante qui a une meilleure capacité à extraire les éléments traces (Sharma, 2016). Plusieurs auteurs notamment Armas *et al.*, 2015; Jiang *et al.*, 2004, ont



montré que la moutarde brune accumule une quantité importante de Cd dans les parties racinaires par rapport aux parties aériennes. Lors de notre expérimentation menée *in situ*, la moutarde brune a préférentiellement stocké le Pb dans ses racines alors que Zn a été principalement absorbé dans les parties aériennes. Bouquet (2018) a aussi constaté que l'accumulation de Pb dans les racines est plus élevée que dans les parties aériennes de moutarde brune (*B. juncea*). Kumar *et al.*, (2019), après 90j de croissance au champ de *B. juncea*, ont trouvé des valeurs moyennes de l'absorption de Cd de  $29,98 \pm 0,21$ , et  $17,38 \pm 1,90$  mg/kg dans les parties aériennes et racinaires et de  $45,63 \pm 9,22$ ,  $32,98 \pm 0,49$  mg/kg pour le Pb.

Lors de cette expérimentation *in situ*, des concentrations plus élevées d'As et Cu ont été observées dans les parties aériennes chez l'*Aurinia saxatilis*. Palutoglu *et al.*, (2018) ont trouvé des concentrations de Cd plus élevées dans les racines et les parties aériennes d'Alysse (*Aurinia saxatilis*) par rapport à notre expérimentation. Sasmaz (2017) ont trouvé des valeurs moyennes d'As dans les racines et parties aériennes d'*Aurinia saxatilis* de 988 et 766 mg/kg MS et 2808 et 1546 mg/kg pour Pb, respectivement. Alyssum (*Aurinia saxatilis*) est considérée comme la meilleure candidate pour la phytoextraction de Ni (Ghaderian *et al.*, 2007 ; Cecchi *et al.*, 2010).

Les facteurs de translocation (FT) des plantes extractrices (*Brassica juncea*, *Sinapis alba* et *Aurinia saxatilis*) des éléments traces des racines vers les parties aériennes (rapport partie aérienne/racines) sont avérés être de l'ordre de Cd (1,57)  $\geq$  Ni (1,57) > Zn (1,51) > Cu (1,02) > As (0,94) > Pb (0,07) pour *Brassica juncea* ; Cd (2,11) > Zn (1,98) > As (1,22) > Ni (0,98) > Cu (0,76) > Pb (0,08) pour *Sinapis alba* et Cu (2,01) > As (1,43) > Ni (1,42) > Zn (1,30) > Cd (0,85) > Pb (0,62) pour *Aurinia saxatilis*. Le FT a révélé que certaines espèces phytoextractrices ont montré des transferts plus élevés des éléments traces comme *B. juncea* (Cd, Cu, Ni et Zn), *S. alba* (As, Cd et Zn) et *A. saxatilis* (As, Cu, Ni et Zn), tandis que les mêmes espèces ont montré moins de translocation d'un métal particulier comme *B. juncea* (As et Pb), *S. alba* (Cu, Ni et Pb), *A. saxatilis* (Cd et Pb). Ceci peut expliquer que ces plantes sont considérées comme des hyperaccumulatrices pour certains éléments dans cette expérimentation malgré le temps d'exposition (4 à 6 mois) par rapport aux autres travaux (2 à 3 mois d'exposition) (An *et al.*, 2011; Ashrafi *et al.*, 2015; Cui *et al.*, 2018; Gharaibeh *et al.*, 2015; Masood *et al.*, 2012; Zu *et al.*, 2017). Cette différence peut s'expliquer par une faible biodisponibilité des métaux plus particulièrement le Pb pour les trois espèces. Kumar *et al.*, (2019), ont trouvé des FT de Cd et Pb ( $1,12 \pm 0,01$  et  $1,78 \pm 0,07$ ). D'après Wang *et al.*, (2019),

un  $FT > 1$ , est considéré comme une norme critique pour la sélection des plantes hyperaccumulatrices.

### **3.3 Concentrations des éléments traces dans les plantes potagères associées à des plantes extractrices**

Les seuils réglementaires dans les denrées alimentaires (directive chinoise GB2762-2012, China) en As :  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}\text{MF}$  Ni :  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}\text{MF}$  pour les légumes et la directive de l'Union européenne n° 1881/2006 (par exemple Cd :  $1-2 \text{ mg kg}^{-1}\text{MF}$ , Pb :  $2-4 \text{ mg}^{-1}\text{MF}$ , Zn :  $400 \text{ mg kg}^{-1}\text{MF}$ ) dans les légumes (racines, feuilles et fruits) (Song *et al.*, 2009 ; Liyahong *et al.*, 2016 ; Douay *et al.*, 2006) ont été appliqués dans cette étude. L'As est considéré comme un métal phytotoxique, qui affecte négativement les plantes, les animaux et les hommes (Tremel-Schaub et Feix, 2005). Les pH très acides ( $<5$ ) et basiques favorisent ( $>8$ ) le prélèvement de l'As par les plantes (Tremel-Schaub et Feix, 2005). La directive de l'Union européenne portant fixation de teneurs maximales pour certains éléments traces dans les denrées alimentaires, l'As n'a pas été réglementé. Dans le cas de notre étude, toutes les espèces contenaient des concentrations d'As supérieures à la limite standard de la directive chinoise quel que soit le mode de culture ou l'organe analysé. Statistiquement, les teneurs en As ont été d'une manière générale similaire, quels que soient l'espèce, l'organe ou le traitement. En ce qui concerne le Nickel, l'analyse statistique par ANOVA ne montre pas un impact significatif entre les traitements à l'exception de la pomme de terre (*Solanum tuberosum L.*) au niveau des tubercules et le poireau (*Allium porrum. L.*) au niveau de sa partie blanche (qui est la partie la plus consommée) avec un traitement association potagères - plantes stabilisatrices qui a induit une plus forte accumulation que les deux autres traitements. Tous les légumes étudiés ont largement dépassé le seuil limite de la directive chinoise pour Ni ( $0,3 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ ). Le nickel est facilement absorbé par la plante et peu toxique pour l'homme (Tremel-Schaub et Feix, 2005). Warming *et al.*, (2015) ont montré que le chou, les pommes de terre, le radis et les laitues cultivées dans des potagers urbains contaminés à des degrés croissants en Ni avaient des concentrations comprises entre  $0,23$  et  $0,62 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ . Nos résultats sont largement supérieurs (pomme de terre :  $5,5 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$  et radis :  $4,5$  à  $11 \text{ mg kg}^{-1}\text{MS}$ , et ne corroborent pas ceux obtenus par Warming *et al.*, (2015). Les études menées par L'Huilier (1994) ont montré que la biodisponibilité du Ni est très variable suivant la position du sol dans le paysage.

Les résultats pour les autres éléments (Cd, Cu, Pb et Zn) sont abordés dans la discussion générale.

### **3.4 Facteur de Transfert (FT) des plantes potagères**

Des facteurs de transfert ont été calculés afin d'évaluer la capacité des plantes à transférer les éléments traces des racines vers les parties aériennes.

#### **3.4.1 Légumes fruits**

Un facteur de translocation est utilisé pour estimer le potentiel d'une plante à la phytoremédiation. Un TF supérieur à 1 signifie une capacité efficace à transporter les éléments traces de la partie racinaire vers la partie aérienne probablement en raison d'un système de transport en métal efficace (Cheraghi *et al.*, 2011; Malik *et al.*, 2010). Nos résultats montrent que la plupart des éléments analysés dans les légumes fruits (tableau 1), Cu, Ni, Pb et Zn sont préférentiellement transférés dans la partie végétative (feuilles et tiges) sur les parcelles potagères seules et association plantes potagères – plantes phytoextractrices chez la tomate. A l'inverse, sur la parcelle association plantes potagères – plantes phytostabilisatrices, le Cd, Ni, Pb et Zn ont été immobilisés dans les racines. Ceci pourrait expliquer que ces quatre éléments semblaient bien localisés dans les racines cellulaires de tomates (*Lycopersicum esculentus*), avec peu de transfert vers les fruits indiquant un faible facteur de transfert, ce qui caractérise que la plante de tomate (*Lycopersicum esculentus*) peut être considérée comme « rejector » de Cd, Ni, Pb et Zn (Baker 1981), c'est-à-dire que la plante tente de limiter et de maintenir un niveau faible de concentration en métaux. Il a été rapporté que la plupart des plantes ont la capacité typique d'accumuler des éléments traces dans les racines sans un transport proportionnel dans les parties aériennes, en raison de la complexation et de la séquestration dans les structures cellulaires (par exemple les vacuoles) des tissus racinaires (Singh, 2005; Kidd *et al.* 2007). Il semble que chez la tomate (*Lycopersicon esculentum*) le transfert des éléments traces vers la partie aérienne se fait facilement, mais la barrière contre les métaux se trouve au niveau du fruit. En ce qui concerne le haricot, les éléments ne transfèrent pas vers les parties aériennes exceptés le Ni (quel que soit le mode de culture) et le Cd sur les parcelles potagères seules et association potagères – plantes phytoextractrices. Cependant ces résultats montrent que la tomate pourrait être une bonne accumulatrice des éléments traces dans les feuilles comparativement à certaines

espèces phytoremédiantes. Ce résultat confirme ceux de Bouquet (2018) sur l'absorption de Pb par les tomates. Dans une étude Fei-li Li *et al.*, (2016), ont mesuré de faibles facteurs de transfert des racines aux fruits pour Cd (0,2), Cu (0,6), Pb (0,5) et Zn (0,2), par contre ils ont observé des facteurs supérieurs à 1 pour Cu (1,1) et Cd (4,01) des racines aux feuilles sur un sol de pH inférieur à 7. Les essais faits par Samuel et Emmanuel (2013), ont montré que la tomate est un candidat potentiel pour la restauration de l'environnement. Pour la tomate, le facteur de transfert des racines aux feuilles, Pb a été observé par Samuel et Emmanuel (2013) le plus faible par rapport aux autres éléments (Cd, Cr, Zn, Ni, Cu, Co). La séquence d'accumulation des éléments traces était dans l'ordre de feuille>tige>racine>fruit (Samuel et Emmanuel, 2013). Des résultats similaires ont montré que les teneurs en Cd chez la tomate ont été préférentiellement stockées dans les feuilles et racines avec des facteurs de transfert (TF >1) par rapport aux fruits (Mamoun *et al.*, 2016).

Les racines constituent la principale voie de pénétration des ions métalliques et selon plusieurs auteurs dont Pendergarss *et al.*, (2006) et Piechalak *et al.*, (2002), le plomb s'accumule principalement dans les racines alors que seule une faible quantité est transportée vers les feuilles, les concentrations dans les racines étaient 50 fois supérieures à celles des feuilles selon ces mêmes auteurs. Orłowska *et al.*, (2002) ont montré que le Pb a une faible mobilité dans le sol et une capacité de former des complexes organiques qui le rendent indisponible pour les plantes. Dans toutes les modalités de culture, on a mesuré des facteurs de transfert (FT < 1) sur la tomate (*Solanum lycopersicum L.*) et le haricot (*Phaseolus vulgaris L.*) pour Cu, Pb et Zn, mettant sur l'accent l'immobilisation du métal dans les racines ce qui peut signifier une stratégie d'exclusion (Baker, 1981).

### 3.4.2 Légumes racines

En ce qui concerne les légumes racines (tableau 2), les facteurs de transfert les plus élevés (>1) ont été observés chez le radis (*Raphanus sativus. L.*) principalement dans le traitement P6 association potagères - plantes phytoextractrices, et pour le Pb pour les tous les traitements (P2, P4 et P6). Nos résultats ne correspondent pas avec ceux obtenus par Marchiol *et al.*, (2003) qui ont trouvé des facteurs de transferts de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn < 1. Ceci indique que le radis absorbait plus de métaux dans les racines et transférait moins de concentration dans la partie aérienne (Eissa et Ahmed, 2016).

A l'inverse, la pomme de terre (*Solanum tuberosum L.*), toutes les valeurs de FT sont largement supérieures à l'unité excepté le Ni (TF = 0,65) dans le traitement P4 Association

potagères - phytostabilisatrices. Dumbar *et al.*, (2003) et Chen *et al.*, (2014), ont respectivement indiqué que l'ordre des teneurs en Cd dans la culture de pomme de terre dans différents sols contaminés était de racines>feuilles>>tubercules et feuilles>tiges>racines>tubercules. Des études similaires ont montré que la tomate, le chou et pomme de terre accumulent très peu de Pb dans les parties consommables (Dorine, 2018). Dans cette expérience, la pomme de terre a été très efficace pour le transfert du Pb dans ses parties aériennes (FT = 42,54 – 73,53). Il est à noter que ces deux plantes et plus particulièrement la pomme de terre ont transféré les métaux toxiques des racines vers les parties aériennes. Ce résultat n'est pas inquiétant car la translocation des éléments traces est ainsi dans les parties vertes non comestibles. D'après Zho *et al.*, (2002), le FT > 1 indique une plante efficace à transporter le métal des racines vers les parties aériennes, probablement en raison de l'efficacité des systèmes de transporteurs des métaux et probablement par la séquestration des métaux dans les vacuoles des cellules de feuilles et l'apoplaste (Lasat *et al.*, 2000).

### 3.4.3 Légumes feuilles

Les légumes feuilles sont considérés comme de bons accumulateurs de métaux lourds, ce qui peut entraîner des risques pour la santé des consommateurs en cas de contamination des sols. Les facteurs de transfert de l'épinard (*Spinacia oleracea L.*) et du poireau (*Allium porrum. L.*) varient selon l'élément (tableau 3). Concernant l'épinard, le FT le plus élevé a été observé pour Zn et Ni quel que soit le mode de culture, et le Cu mais ceci principalement dans le rapport tiges vers les feuilles. Pour ce qui est du poireau, le FT le plus important a été observé pour Ni, et la translocation des métaux des parties blanches aux parties vertes est aussi élevée quel que soit le polluant pas surprenant c'est la même feuille. Pour Cd, la valeur de FT la plus élevée a été trouvée pour les racines vers les parties vertes de poireau (*Allium porrum. L.*) pour le traitement potagères seules (FT = 5,92). Cette valeur dépasse largement le seuil réglementaire de l'UE pour Cd car cet élément est sans doute beaucoup plus disponible. Cependant, même si les seuils réglementaires sont dépassés, ces concentrations sont aussi relativement faibles par rapport à la concentration présente dans le sol. Eissa et Negim, 2018, ont obtenus des FT de Pb, Cd et Ni plus élevés que la laitue. Par contre Ebrahim *et al.*, 2019, ont obtenus des FT <1 de tous les métaux mesurés chez l'épinard excepte le Zn  $\geq 1$  qui semblaient être localisés dans les racines avec peu de transfert vers les feuilles, indiquant que

les racines agissent comme une barrière à la translocation et protègent les parties comestibles des éléments traces toxiques (Mishra et Tripathi, 2008).

Le FT élevé pour le Zn n'est pas surprenant car c'est un oligoélément pour les plantes et qui se déplace facilement, alors que le Pb avait le FT le plus faible parmi les six éléments. Selon plusieurs auteurs, le plomb a tendance à s'accumuler à de faibles concentrations dans les plantes et que s'il est absorbé par la plante la plus grande partie du Pb se trouve séquestrée dans les racines (Seregin *et al.*, 2004).

#### **4 Quantité totale des éléments traces extraite par les plantes**

La détermination de la quantité totale extraite par une plante dans un sol pollué a fait l'objet de très peu d'études. Dans la présente étude, il était important de raisonner en quantité totale des éléments traces extraits en prenant compte la biomasse végétale produite par plante. La figure 9 montre que les quantités moyennes extraites d'As des parties comestibles du haricot et de l'épinard (Fig. 9b et e) sont significativement supérieures à celles des feuilles et racines. Le traitement monoculture (potagères seules) avait enregistré les quantités en As les plus importantes et l'analyse statistique montre une différence significative des concentrations en As entre les modalités de culture. L'accumulation d'un élément trace dépendrait de l'espèce végétale cultivée mais aussi le degré de la contamination du sol. Pour les plantes phytoextractrices (Figure 9g), la quantité totale la plus importante en As a été absorbée par la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*) tant au niveau racinaire qu'au niveau aérien. Ceci est probablement dû à la grande biomasse produite par cette espèce.

Le Cd a une toxicité élevée pour l'homme et une forte phytodisponibilité (Anne et Feix, 2005). En ce qui concerne l'absorption de cet élément dans les potagères, des recherches ont montré que les feuilles de laitue concentraient fortement de Cd comparativement à d'autres plantes potagères tels que les haricots verts, la tomate, la pomme de terre, le radis, la carotte, le chou, la menthe, le poivron, la courgette, le concombre (Pruvot *et al.*, 2006 ; Abdu *et al.*, 2011 ; Douay *et al.*, 2013 ; Warming *et al.*, 2015).

Dans notre cas, l'*Allium porrum. L.* (Fig. 10f), le traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices a permis d'extraire au niveau de ces racines une quantité plus importante de Cd qu'en monoculture et association potagères – plantes phytoextractrices. Il en est de même dans ses feuilles vertes (qui sont comestibles) mais ceci a été observé en monoculture. Les feuilles du poireau ont des teneurs en Cd au dessus des seuils réglementaires des

directives européenne et chinoise (CEE N°1881/2006, Cd= 2mgKgMS et GB2762-2005, Cd= 0,2mgKg). Quant aux plantes phytoextractrices (Fig. 10g), *Aurina saxatilis* (Fig. 10g) a extrait la quantité la plus importante de Cd qui a été stocké dans les deux organes (racines et partie aérienne). Ceci montre que l'*Aurina saxatilis* pourrait être un candidat idéal pour la remédiation des sols pollués. Selon les données bibliographiques, l'*Aurinia saxatilis* qui appartient à la famille des Brassicacées a été prouvé comme candidat viable pour les technologies commerciales de phytoremediation et de l'agromine du Ni (Saad *et al.*, 2017 ; Broadhurst and Chaney, 2016).

En ce qui concerne Cu (Figure 11), les quantités totales extraites par le radis (*Raphanus sativus. L.*) et le poireau (*Allium porrum. L.*) (Fig. 11c et f), montrent des différences significatives (P = 0,41 et 0,012). Pour la partie comestible du haricot et la partie aérienne du radis (Fig. 11b et c), c'est le traitement (monoculture) qui a extrait une quantité importante de Cu. Par contre, pour le poireau (*Allium porrum. L.*) au niveau des racines (Fig. 11f), la quantité la plus importante en Cu a été mesurée sur la placette association potagères - plantes phytoextractrices. Les études menées par plusieurs auteurs (Arora *et al.*, 2008 ; Ferri *et al.*, 2015; Warming *et al.*, 2015) ont montré que les concentrations en Cu dans les légumes fruits étaient plus faibles que celles mesurées dans les légumes feuilles et les légumes racines. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par ces auteurs.

Il n'y a pas eu de différences significatives détectées entre les organes des autres espèces *Solanum lycopersicum L.*, *Phaseolus vulgaris L.* et *Aurina saxatilis L.* (Fig. 11a, b et g), mais nous constatons par exemple qu'il y avait une accumulation importante de Cu dans les parties aériennes chez la tomate. Shilev and Todor (2015) ont étudié les tomates, l'aubergine et le poivron sur un sol pollué et ils ont observé les mêmes résultats sur l'accumulation élevée de Cu et d'autres éléments dans les organes non comestibles de la tomate.

Peu d'études se sont focalisées sur l'accumulation de Ni dans les plantes potagères (Warming *et al.* 2015 ; Mihali *et al.*, 2012). Ces auteurs ont constaté que les concentrations en Ni dans des sols contaminés étaient proches de valeurs obtenues dans des végétaux cultivés en milieu non contaminé (sol témoin). Dans notre étude, le haricot, le poireau ont présenté des différences significatives entre modalité de culture ainsi que les plantes phytoextractrices entre espèce (*S. alba*, *B. juncea* et *A. saxatilis*), Fig. 12b, f et g. Le haricot quel que soit le tissu et le poireau dans la partie verte des feuilles, ont extrait une quantité significative de nickel dans le traitement monoculture par rapport aux autres traitements. Ceci est probablement dû à la biomasse importante produite sur le traitement monoculture. Le poireau

(*Allium porrum. L.*) qui est un légume feuille a habituellement une croissance rapide et un taux de transpiration élevé par rapport aux autres légumes. Ceci peut favoriser ainsi l'absorption des métaux par les racines et leur translocation vers les parties aériennes (Kim *et al.*, 2015 ; Roba *et al.*, 2016). Les concentrations de Ni dans le poireau ont dépassé largement le seuil réglementaire (0,3 mg.kg<sup>-1</sup> MS) de la directive chinoise précitée quelle que soit la partie consommée. La partie racinaire de la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*) des plantes phytoextractrices, correspond à la quantité totale de Ni la plus importante alors que pour la moutarde brune (*Brassica juncea L.*) et moutarde blanche (*Sinapis alba L.*), on mesure des concentrations similaires de Ni. Même si les effets ne sont pas significatifs entre les plantes phytoextractrices, la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*) et le *Medicago sativa* ont absorbé des quantités très importantes par rapport aux autres espèces dans les parties aériennes.

Pour Pb, le traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices, les parties racinaires de la tomate (Fig. 13a) ont extrait une grande quantité de Pb par rapport aux deux autres modes de cultures (potagères seules et association potagères-plantes phytoextractrices). En effet, l'accumulation de Pb par la tomate dans les racines en présence des phytostabilisatrices montre que cette association favorise la diminution le transport du Pb vers les parties aériennes. Ceci semble être plus efficace en association qu'en monoculture. Par contre dans le cas du radis dans les deux organes et le poireau pour sa partie racinaire, c'est le traitement monoculture qui a enregistré l'accumulation significative de Pb quel que soit l'organe. Quant aux plantes phytoextractrices, la corbeille d'or (*Aurina saxatilis L.*) a absorbé les quantités de Pb les plus importantes tant au niveau des racines qu'au niveau de la partie aérienne, alors que sur la moutarde brune et la moutarde blanche qui sont connues pour leur capacité à extraire les métaux, nous avons enregistré les valeurs les plus faibles quel que soit l'organe analysé. On constate aussi qu'il y avait eu une diminution de Pb au niveau des parties végétatives du haricot, du radis et du poireau (Fig. 13b, c et f) quand ceux-ci étaient cultivés en association. D'après Alexander *et al.*, (2006), les légumes feuilles sont considérés comme des forts accumulateurs en Pb et les légumes racines comme des accumulateurs modérés.

Le Zn est fortement phytodisponible et se trouve en quantités plus élevées dans les racines que dans les parties aériennes, et il est peu phytotoxique sauf sur les sols fortement pollués (Tremel-Schaub et Feix, 2005 ; Warming *et al.*, 2015). Des études menées par Roba *et al.* (2016) en Roumanie ont montré que les légumes fruits tels que les tomates, les courgettes, les haricots, les concombres, les poivrons accumulent moins de Zn comparativement aux autres légumes. Nos résultats corroborent ceux obtenus par ces auteurs pour les légumes fruits tels



que la tomate et le haricot (Fig. 14a, b) dans les parties comestibles. Quant aux légumes racines (Fig. 14c), le radis cultivé en monoculture a absorbé une quantité significative de Zn dans la partie comestible (racine), et lors du traitement association potagères - plantes phytostabilisatrices avait extrait une quantité aussi importante de Zn dans les feuilles. Pour les pommes de terre, le Zn a été absorbé principalement dans les parties aériennes quel que soit le mode de culture. En ce qui concerne les légumes feuilles, le traitement monoculture a enregistré les quantités les plus importantes dans les parties aériennes (feuilles et tiges) de l'épinard (Fig. 14e) correspondant aux parties comestibles. Warming *et al.*, (2015) ont montré que les salades et les radis présentaient les concentrations les plus fortes en Zn. On observe une légère diminution de Zn quand l'épinard a été associé avec les plantes phytoextractrices. Pour les plantes phytoextractrices, la quantité extraite de Zn la plus élevée a été observée chez *S. alba* (plante extractrice) dans les parties aériennes (Fig. 14g) et *Lolium perenne* (plante stabilisatrice) tant au niveau racinaire qu'au niveau aérien (Fig. 14f).

#### 4.1 Conclusion partielle n° 1

Le système de culture associée, plantes potagères et plantes extractrices ne donne pas les résultats identiques à d'autres essais par d'autres auteurs. Au lieu de limiter le transfert de polluants vers les parties comestibles, l'association avec des plantes extractrices l'a favorisé. On peut penser que les plantes extractrices ne jouaient pas leur rôle de stockage des polluants biodisponibles à cause de la forte toxicité du sol. Il y a eu certes des diminutions des polluants pour certaines plantes potagères quand elles étaient cultivées en association et pour certains éléments mais les concentrations dépassent toujours les seuils maximums admissibles dans les parties comestibles, excepté le plomb dans les tomates, le cadmium dans les pommes de terre, l'épinard et le poireau (partie blanche) qui restent en dessous du seuil réglementaire. Même si le pH du sol était légèrement alcalin, ce résultat facilite l'immobilisation des éléments traces, ils se retrouvent tout de même dans les parties consommables des plantes potagères avec des concentrations qui dépassent les seuils en métaux lourds admissibles dans les denrées alimentaires.

En ce qui concerne les plantes phytoextractrices, le Cadmium a été préférentiellement accumulé dans les parties aériennes de *Brassica juncea* et *Sinapis alba* par rapport aux parties souterraines, même si cet écart ne présente pas de différence significative. A l'opposé du Pb, les trois espèces phytoextractrices l'ont absorbé dans les parties souterraines. L'*Aurina saxatilis* constitue une espèce appropriée pour la phytoextraction des métaux dans le sol.

Concernant la quantité d'éléments extraite par les plantes lors de cette expérimentation, certaines espèces ayant produit le plus de biomasse montrent les plus fortes quantités en éléments traces, ce qui est un des critères des choix pour la plante remédiate.

Le facteur de transfert (FT) des métaux dans les parties aériennes est limité et donc les quantités en métaux restent trop faibles pour permettre une phytoextraction efficace. On peut donc conclure que la réhabilitation sur le sol de La Pierre Fitte avec la technique de phytoremédiation simultanément à la production de denrées alimentaires pourrait prendre beaucoup de temps en raison de la faible biodisponibilité des métaux lourds.

## **Evaluation of trace metal accumulation in six vegetable crops intercropped with phytostabilizing plant species, in a French urban wasteland**

Xavier Laffray<sup>a\*</sup>, Kamal Toulaïb<sup>a\*</sup>, Clarisse Balland-Bolou-Bi<sup>b+</sup>, Matthieu Bagard<sup>a</sup>, Luis Leitao<sup>a</sup>, David Huguenot<sup>c</sup>, Vanessa Alphonse<sup>b</sup>, Samir Abbad-Andaloussi<sup>b</sup>, Alexandre Livet<sup>b</sup>, Noureddine Bousserrhine<sup>b</sup>, Juliette Leymarie<sup>a</sup>, Anne Repellin<sup>a</sup>

### **Affiliations**

1. Institute of Ecology and Environmental Sciences of Paris (iEES Paris) - Université Paris Est Créteil, UMR 7618, 61 avenue du Général de Gaulle, F-94010 Créteil cedex, France.

2. Laboratoire Eau Environnement et Systèmes Urbains (LEESU), UMR MA, 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil Cedex, France

3. Laboratoire Géomatériaux et Environnement (LGE), EA 4508, Université Paris Est Marne-la-Vallée (UPEM), 77454 Marne-la-Vallée, France.

+Corresponding author at: Laboratoire Eau Environnement et Systèmes Urbains (LEESU), UMR MA 102 - Université Paris Est Créteil, 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil Cedex, France. E-mail address: [clarisse.bolou-bi@u-pec.fr](mailto:clarisse.bolou-bi@u-pec.fr) (C. Balland-Bolou-Bi).

### **Funding**

The authors thank the Région Ile-de-France and its “Partenariat Institutions-Citoyens pour la Recherche et l’Innovation” or PICRI programme, the “Département du Val-de-Marne” and the Islamic Development Bank (IDB), for financial support.

### **Abstract**

The extensive development of agriculture in urban and peri-urban wastelands polluted with several trace elements (TE) poses risks to human health through contaminated food products. The objective was to explore the accumulation of TE in the various parts of vegetable crop plants (tomato, French bean, radish, potato, spinach and leek) intercropped with phytostabilizing plant species (ryegrass and white clover, respectively). Field studies were conducted in a multicontaminated French urban wasteland with Cd, Cu, Pb and Zn and a alkaline soil pH. Analyses of the respective non-edible parts of monocultured vegetable crops showed accumulation of all TE, mostly Zn, then Pb and Cu and finally Cd. The corresponding TE accumulation factors (soil to plant) were all below 0.25. In the edible parts, average

concentrations for TE were above the limit values, according to European and Chinese standards. TE contents in the phytostabilizing species chosen were in the same orders of magnitude and same ranking as described for vegetable crops and most accumulation was in the roots. Unexpectedly, the presence of the phytostabilizing plants had a very strong positive impact on the soil to plant accumulation factor. Moreover, the edible plant parts were poorly impacted by the co-cropping with phytostabilizing plants.

Key words: vegetable plant species, phytostabilizing plant species, intercropping, trace metals, bioaccumulation factors.

## 1 Introduction

Slightly below 30% in 1950, the rate of urbanization crossed 50% worldwide in 2007 and is projected to reach 68% by 2050 (Véron 2007; United Nations Department of Economic and Social Affairs Population Division 2018). Although difficult to quantify, the part of urban agriculture in the production of food was estimated at 15% worldwide in 1996 (Smit *et al.* 1997). It can reach up to 60% in Southern countries (Dubbeling *et al.* 2010), and will most likely follow the trends of urban population in the Northern hemisphere (Mayol and Gangneron 2019). However, urban sites used or foreseen as agricultural plots, are often contaminated with combinations of several metals and metalloids (such as cadmium, copper, lead, nickel, zinc, arsenic and antimony), remnants of industrial activities, solid waste disposal, drainage pollutions, sludge spreading and vehicle exhausts (Wong *et al.* 2007; Chopra and Pathak 2015). Long-term exposure to these trace elements (TE) through contaminated fruit and vegetable consumption may lead to deleterious health impacts in humans and animals, now well documented (McBride 2003; Cui *et al.* 2004; Hough *et al.* 2004; Wang *et al.* 2005; Duruibe *et al.* 2007; Nabulo *et al.* 2010; Säumel *et al.* 2012). On the other hand, fruits and vegetables are essential to the human diet due to their contents in fiber, vitamins and minerals (Abdulla and Chmielnicka 1989; Sobukola *et al.* 2007) and their daily consumption is encouraged in many countries. Remediation of urban soils is thus essential to the production of healthy and safe food products. Several techniques have been developed to eliminate the risks caused by TE in urban soils, most involving soil excavation and transport to treatment sites for acid washing, followed by physical or chemical separation of the contaminants (Garbisu *et al.* 2002). Phytoremediation is an alternative to these expensive physical and chemical techniques. It involves onsite cultivation of selected plant species to control the flows of pollutants in the environment (Robinson *et al.* 2009). Phytoextraction is

one phytoremediation technique, whereby plants are used to efficiently transfer soil TE to the above-ground plant tissues (Krämer 2010). On the other hand, phytostabilization aims at minimizing TE mobility in the soil through their interaction with plant underground biomass. Thus, plants are tolerant to TE and if they absorb them, transfer to their aerial parts is negligible (Grant *et al.* 1998). In order to accelerate the conversion of contaminated urban land into safe agricultural sites, growing attention is given to the intercropping of vegetable plants with mostly hyperaccumulating rather than stabilizing plant species. A co-culture of *Sonchus asper* plants (a fast-growing *Asteraceae* species, with high biomass and accumulation capacity for cadmium) and *Vicia faba* L. (*Fabaceae*) plants, in a Cd-contaminated soil, enhanced Cd accumulation as well as above and below-ground biomass production for *Sonchus asper*, compared to monoculture stands (Zu *et al.* 2020). Co-cultivation of *Phyllostachys praecox* (*Poaceae*) with *Sedum plumbizincicola* (*Crassulaceae*) in the presence of Cd, Cu and Zn, resulted in increased biomasses and concentrations of Cd, Cu and Zn in roots and aerial parts of *P. praecox* (Bian *et al.* 2017). Intercropping young potted grapevine plants with two stabilizing grasses (*Poaceae*) *Paspalum plicatulum* Michx. and *Axonopus affinis* Chase, was efficient in reducing Cu bioavailability (De Conti *et al.* 2019). In another experiment on potted plants, Cui *et al.*, 2018 found that alfalfa (*Fabaceae*) associated with ryegrass (*Poaceae*) presented higher biomass and reduced absorption of Pb than in monoculture. These contrasted results indicate that the soil and plant mechanisms that control TE flows in intercropping experiments remain unclear.

The objectives of the present work were to test various intercropping combinations of vegetable plants with phytostabilizing species, under field conditions, in order to investigate plant growth, TE uptake and distribution characteristics in a multiple TE contaminated soil (Cd, Cu, Pb and Zn). To reach these objectives, field trials were carried out at the La Pierre-Fitte urban site (Villeneuve-Le-Roi, 94, Ile de France, France).

## **2 Materials and methods**

### **2.1 Study area and experimental plots**

The study site, La Pierre-Fitte, is a 0.08-km<sup>2</sup> urban green area located in the Southern suburbs of Paris, France (48°44'28.1"N; 2°26'13.9"E). In the 80's, the north part of the site (0.02 km<sup>2</sup>) has been used for more than ten years as an unauthorized landfill for heterogeneous materials including construction waste and rubble of various origins (glass, bricks, etc.). There, the

upper layer consists of a coarse sandy soil characterized by a polymetallic pollution (Paysage, 2013; BG, 2013). In spring 2015, a 15 m × 10 m section of this area was cleared of spontaneous vegetation, enclosed and prepared for plant cultivation: stones and fragments above 5 cm in size were removed from the top layer and the upper 30 cm were tilled. In the enclosure, four 2 m × 2 m plots were delimited and assigned the following treatments: P1, bare soil; P2, monocultures of vegetable plants; P3, monocultures of phytostabilizing plants; P4, co-cropping of vegetable plants and phytostabilizing plants. On each plot, three replicates of each treatment were set up. Experimental design is displayed in supplementary data SD1.

## 2.2 Plant materials

The vegetable plant species selected for the study were species and varieties commonly grown and consumed in European countries: tomato (*Solanum lycopersicum* L. var. Marmande, Truffaut, France), French bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. Fin de Bagnols, Truffaut, France), spinach (*Spinacia oleracea* L. var. Junius, Vilmorin, France), leek (*Allium porrum* L. var. Bleu de Solaise, Truffaut, France), radish (*Raphanus sativus* L. var. 18 Jours, Vilmorin, France) and potato (*Solanum tuberosum* L. var. Charlotte, Truffaut, France). Altogether, three types of vegetables were represented: fruit/podded vegetables (tomato, French bean), leafy/stem vegetables (spinach, leek) and root/tuberous vegetables (radish, potato). Each type included a species accumulating low (French bean, leek, potato) and high (tomato, spinach, radish) levels of TE according to the 'BAPPET' report (ADEME/INERIS 2014). Two plant species were used for TE stabilization. They were chosen on the basis of the collected scientific and technical literature on the subject and on their accessibility and relatively undemanding growth requirements. They were: English ryegrass (*Lolium perenne* L. var. NUI, Nova-Flore, France) and white clover (*Trifolium repens* L., var. Hollandicum, Les Semences du Puy, France).

## 2.3 Plant growth and harvest

In the 2 m × 2 m plots described above, 30 cm × 30 cm separate blocks were designed, wherein plants were grown at densities commonly found in vegetable gardens: one tomato-, two potato-, nine spinach-, four French bean-, sixteen radish- and six leek plants. Phytostabilizing plants were sown following the suppliers' instructions. Co-cropping was achieved by planting the vegetable plants and the phytostabilizing plants in adjacent 30 cm × 30 cm blocks, at densities indicated above. As a result, four cropping modalities were used (P1-P4), as described in section 2.1.

Plants were cultivated from May to mid-September, 2015. All plots were regularly irrigated with tap water and weeded manually on a weekly basis. For vegetables, common cultivation and harvest practices were applied, according to the practical guide by (ADEME/INERIS 2014). Fruits (*S. lycopersicum*) and pods (*P. vulgaris*) were harvested at maturity throughout the cultivation period. Phytostabilizing plants were harvested between mid-August and mid-September, before onset of senescence. The harvested biomass was divided between roots, shoots and, if applicable, edible parts. Each part was rinsed with tap water, further rinsed with distilled water, blotted with tissue paper and weighed (fresh weight). Plant tissues were then oven-dried at 60°C for 72 h until complete water evaporation and were weighed again (constant dry weight, DW). Dried plant tissues were stored at 20°C in a dry environment until further analysis.

#### **2.4 Soil sampling and analyses**

Soil was collected within the top 10 cm. Before plant cultivation, three 0.5 kg soil samples (pre-cultivation soil, Ti) were collected from each of the four 2 m × 2 m plot. At plant harvest, three soil samples were collected for each plant species in the P1, P2, P3 and P4 treatments. One sample corresponded to the combination of three sub-samples collected from each 30 cm × 30 cm block. After drying at 20°C for 7 days, soil samples were sieved through a 2 mm stainless steel mesh.

Granulometric analyses were performed according to the ISO NF X 31-107 standard protocol. The apparent soil pH ( $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ ) was measured in a 1:5 (w/v) soil/water ratio suspension after 2 h of equilibration. Effective cation exchange capacity (CEC) was measured with the soil maintained at sampling pH value, using a buffered 0.1 M ammonium acetate salt solution (1:10 w/v) (Mathieu and Pieltain 2003).  $\text{CaCO}_3$  corresponds to calcium carbonate content in soil samples and is determined by Bernard calcimeter method according to the ISO 10693. The total organic carbon is determined by calcination at 400 °C according to the ISO 10694 standard protocol. For the determination of soil total trace element contents, all chemicals used were of trace metal grade purity. Soil samples were dissolved in Teflon digestion tube (SCP Science, France) at 80°C in a mixture of concentrated  $\text{HNO}_3$ –HF (3/1 mL) using a hot block (Digiprep MS, SCP Science, France). Samples were evaporated to dryness at 80°C, dissolved in 2 mL of concentrated HCl overnight and warmed at 80°C during 4 hours. The corresponding solutions were evaporated to dryness and residue dissolved in 5%  $\text{HNO}_3$  before analysis by ICP-OES (Spectroblue, Ametek, Elancourt, France). Soil concentrations in TE were given in ppm or mg/kg DW. For the validation of trace element contents in soil samples,

concentration values were compared with those of an international certified reference material for the soil (sediment LGC-6139, Techlab, France; supplementary data SD2).

The labile fraction of TE in soil samples was determined as follows. Soil samples (100 g packed as 2 cm-thick layers) were placed in Petri dishes, wetted with milliQ water for 4 d at a moisture content corresponding to 70% of the water holding capacity (WHC) and at constant temperature (20°C). Diffuse Gradient in Thin film (DGT) samplers (Research Ltd., UK) were assembled as previously described (Zhang and Davison 2000) with 0.45 µm pore-size cellulose acetate filters. DGT units were then placed on the surface of the 2 cm-thick soil layers at 70% of WHC and pushed down carefully (1 cm in depth approximately) until the DGT unit was in full contact with the soil solution, to avoid the formation of air bubbles. The Petri dishes and the devices were covered with Parafilm® to limit evaporation. Four DGT units were placed on each Petri dish. After 24 h at room temperature (20 °C), DGT units were removed from the soil and rinsed with Milli-Q water (Arium® Mini, Sartorius, Dourdan, France). The resin layer was retrieved and metals were eluted from the resin after its immersion in 1 mL 2N HNO<sub>3</sub> for 48 h at room temperature (20°C). The concentrations of metals in the elutants were measured with ICP-OES (Spectroblue). The mass (µg) of metals in the resin gel was calculated as follows:

$$M = C_e(V_{\text{HNO}_3}/V_{\text{gel}})/EF \quad (\text{Eq. 1})$$

where  $C_e$  is the concentration of metals in the elutant (µg/mL) measured analytically,  $V_{\text{HNO}_3}$  is the volume of HNO<sub>3</sub> (1 mL),  $V_{\text{gel}}$  is the volume of gel used (0.15 mL) and  $EF$  is the elution factor for metals as proposed by Zhang and Davison, 2000. The time-averaged concentration at the soil-diffusion layer interface ( $C_{\text{DGT}}$ , µg/L), hereafter named labile fraction of metal cations, can be calculated from:

$$C_{\text{DGT}} = 1000 M\Delta g/D.dt.A \quad (\text{Eq. 2})$$

where  $\Delta g$  is the diffusion layer thickness (0.094 cm),  $D$  is the diffusion coefficient of metals in the diffusion layer (DGT research Ltd.),  $dt$  is the deployment time (s) and  $A$  is the area of the gel membrane exposed to the soil (3.14 cm<sup>2</sup>).

## 2.5 Trace element (Cd, Cu, Pb and Zn) contents in plant tissues

For elemental analysis using ICP-OES (PerkinElmer Optima 8300 Spectrometer, USA), dry plant tissues were ground into fine powder, using a high-speed rotor mill adapted for TE-free sample preparation (Pulverisette 14, Fritsch, Germany). All chemicals used were of trace



metal grade purity. 0.5 g of dry plant tissue powder was wet digested with 5 mL HNO<sub>3</sub> and 2 mL 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in a digestion block (LabTech DigiBlock Digester ED16S, France) at 125°C for 1 h. Heating cycles and hydrogen peroxide additions were repeated three times to obtain clear digests. To remove residual particles, mineralized samples were filtered through cellulose filters (pore size 2.5 µm) and brought to a final volume of 20 mL. Samples were additionally filtered through nitrocellulose syringe filters (pore size 0.45 µm) and stored at 4°C until TE were analysed by ICP-OES. TE concentrations in plant samples were given in mg/kg DW.

For the validation of TE contents in plant tissues, concentration values were compared with those of an international certified reference material for plants (oriental basma tobacco leaves, INCT-OBTL-5, Laboratory Standards, Hungary; supplementary data SD2; (Samczyński *et al.* 2012). For interpretation, Cd and Pb contents in the edible parts of the vegetable crops were compared to maximum levels set by the European Commission in order to protect public health, expressed in mg/kg of fresh weight (FW) (EC 1881/2006).

## **2.6. Quality control**

Each soil and plant samples were digested and analyzed in triplicates. Two certified reference materials (LGC-6139 and INCT-OBTL-5) were used for quality control of soil and plant trace element analysis, respectively. The recoveries of trace elements by the digestion methods used here ranged between 94% and 111% for soil samples and between 67.5% and 101% for plant samples (supplementary data SD2). To test for interference and contamination, blanks were analysed every ten samples in the ICP-OES procedures. In addition, reference samples (both soil and plants) were analyzed at the beginning and end of each series of randomly analyzed experimental samples. Instrument performance during analysis was monitored, using internal standards (ES-H-2 CRM and PlasmaCAL Q.C.No4, SCP-Sciences, Canada). The detection limits with ICP-OES were 0.02 ppm for Pb and Zn, 0.01 ppm for Cd and Cu. LOD values of the analytical instruments were displayed in supplementary data SD2. The LOD of the methods used for trace element determination ranged between 13.6 and 207.0 ppm for soil samples and between 0.07 and 0.61 ppm for plant samples (supplementary data SD2).

## **2.7 Trace element bioaccumulation parameters**

The biological concentration factor values (BCF) were calculated as the ratios of global plant tissue TE concentrations to the total soil TE concentrations (Cui *et al.* 2004; Kachenko and Singh 2006). Enrichment factor values (EF) in various plant parts (including edible parts)

were calculated as the ratios of TE concentrations in a given plant part to the corresponding soil TE concentrations (Xiaomei *et al.* 2005; Ali *et al.* 2013).

## 2.8 Statistical analysis

All statistical analyses were performed using the SPSS V20.0 programme. The normality of all data was confirmed using Shapiro-Wilk test. Analysis of variance (ANOVA) was used to examine significant differences in the mean trace metals concentration of soil and plant (testing the null hypothesis that the means are equal). Individual means were compared using the post hoc Tukey test at  $p \leq 0.05$ .

## 3 Results

### 3.1 Physicochemical characterization of the La Pierre-Fitte soil

Pre-cultivation soil analyses indicated that the soil at the La Pierre-Fitte site was a calcareous ( $\text{CaCO}_3 > 15\%$ ) anthrosol with neutral to slightly alkaline pH and pH-KCl values (Table 1). Sand proportion was high (89.5%) and well over that of clay (9.75%) and silt (0.73%). The organic matter content ranged from 5.7 to 7.4%. The mean cation exchange capacity (CEC) value was 10 meq/100g (Table 1).

Total TE concentrations and TE time-averaged concentrations at the soil-diffusion layer interface (TE labile fractions,  $C_{DGT}$ ), in the pre-cultivation soil ranked as follows:  $\text{Pb, Zn} > \text{Cu} > \text{Cd}$  and  $\text{Zn} > \text{Pb, Cu, Cd}$ , respectively (Ti values, Table 2). Mean Pb and Zn total soil contents were 1128 and 1050 mg/kg DW, respectively. Mean Cu contents were 265 mg/kg DW (Table 2). Considering the limits set for agricultural land in France (NF U44-041), it appeared that Zn and Pb were approximately 3 and 10 times in excess. Cd and Cu concentrations, despite being one order of magnitude below Zn and Pb, also were well above (approximately 10 and 2.5 times for Cd and Cu, respectively) the authorized limits (NF U44-041).

Table 1. Principal physicochemical characteristics of the experimental topsoil at the La Pierre-Fitte study site (France). Mean, median, minimum and maximum values were obtained from 12 soil samples collected in the area of study.

Parameters	Min	Max	Mean	Median	Variation coefficient (%)
------------	-----	-----	------	--------	---------------------------

pH <sub>(H<sub>2</sub>O)</sub>	7.27	7.49	7.41	7.44	1.1
pH <sub>(KCl)</sub>	6.97	7.18	7.11	7.14	1.1
Clay (%)	7.1	12.1	9.75	9.86	19.5
Silt (%)	0.5	0.9	0.73	0.76	20.5
Sand (%)	87.0	92.3	89.5	89.4	2.3
TOC <sup>a</sup> (%)	5.7	7.4	6.6	6.7	9.1
CaCO <sub>3</sub> <sup>b</sup> (%)	24.1	29.8	26.7	26.0	8.7
CEC <sup>c</sup> (meq/100g)	8.6	11.8	9.8	9.4	13.2

<sup>a</sup> TOC is the total organic carbon determined according to the ISO 10694 standard protocol

<sup>b</sup> CaCO<sub>3</sub> is the carbonate calcium determined according to the ISO 10693 standard protocol

<sup>c</sup> CEC is the effective cation exchange capacity determined according to Mathieu and Pieltain (2003).

### 3.2 Impact of plant cultivation on soil total TE concentrations and TE labile fractions

At the end of the experiment, and regardless of the cropping modalities, Pb and Zn were still by far, the major pollutants in the soil, as was the case in the pre-cultivation soil (Tf total values, Table 2). Pb contents ranged between 708 mg/kg DW (P1, bare soil) and 1071 mg/kg DW (P3, monocultures of phytostabilizing plants). Zn contents ranged between 574 mg/kg DW (P1) and 789 mg/kg DW (P3). Cu contents ranged between 118 mg/kg DW (P1) and 372 mg/kg DW (P4, co-cultures of vegetable plants and phytostabilizing plants). For Cd, total contents and labile fraction values were below method LOD (Table 2). Generally, the presence of plants (particularly in the P3 and P4 modalities) led to higher TE contents, compared to the bare soil modality, P1.

Regardless of cropping modality, Zn was the most abundant TE in the initial and final soil labile fractions, followed by Pb and Cu (Ti- and Tf-C<sub>DGT</sub>, Table 2). In bare plots (P1), labile Cu and Pb fractions decreased by approximately 80% ( $p \leq 0.05$ ) over the duration of the experiment (labile Zn also decreased, however non significantly). The presence of plants (modalities P2-P4) had no significant impact on TE labile fractions, compared with that of the initial soil (Table 2). However, TE labile fractions were lower in the P2 and P3 modalities than in P4. The labile fractions of the TE were then compared to the corresponding total concentrations (lability ratios), for each cropping modality (Table 2). Per mills were used due to the large discrepancies between labile fractions and total contents. Lability ratios were higher for Zn than for all other three TE. Interestingly, for Cu, they were higher than for Pb,

even though Cu labile fractions were lower than that of Pb. Even if it was not significant, Cu and Pb lability ratios were highest in the pre-cultivation soil and in P4 than in P1-P3 modalities, respectively. It should be noted that plant cultivation had no significant impact on soil pH (data not shown).

Table 2. Trace element (TE) total concentrations (mg/kg DW) and TE labile fractions (CDGT, µg/L), in the topsoil at the La Pierre-Fitte study site. Crop modalities corresponded to bare soil (P1), monocultures of vegetable crops (P2), monocultures of phytostabilizing plants (P3), co-cultures of vegetable plants and phytostabilizing plants (P4).

Time	Treatment	Cu		Pb		Zn		Cd		
		Mean	Std	Mean	Std	Mean	Std	Mean	Std	
Ti	Total	265	215	1128	432	1051	345	< 207	-	
	C <sub>DGT</sub>	0.24	0.12	0.46	0.26	1.08	0.48	<1.03	-	
	Lability ratio (‰)	<b>0.53</b>	<b>0.28</b>	<b>0.24</b>	<b>0.14</b>	<b>0.62</b>	<b>0.28</b>	-	-	
Tf	Total	118	2.0	708	3	574	9	< 207	-	
	P1	C <sub>DGT</sub>	0.05*	0.03	0.18*	0.09	0.67	0.16	<1.03	-
		Lability ratio (‰)	<b>0.28</b>	<b>0.14</b>	<b>0.16</b>	<b>0.08</b>	<b>0.70</b>	<b>0.17</b>	-	-
		Total	141	30	799	202	632	41	< 207	-
	P2	C <sub>DGT</sub>	0.03	0.04	0.25	0.15	0.77	0.24	<1.03	-
		Lability ratio (‰)	<b>0.14</b>	<b>0.16</b>	<b>0.19</b>	<b>0.11</b>	<b>0.73</b>	<b>0.23</b>	-	-
		Total	213	54	1071	183	789	150	-	-
	P3	C <sub>DGT</sub>	0.15	0.09	0.31	0.14	1.09	0.21	0.17	0.01
		Lability ratio (‰)	<b>0.41</b>	<b>0.26</b>	<b>0.17</b>	<b>0.08</b>	<b>0.83</b>	<b>0.16</b>	-	-
Total		372	252	1004	125	748	171	< 207	-	
P4	C <sub>DGT</sub>	0.33	0.19	0.36	0.14	1.05	0.54	<1.03	-	
	Lability ratio (‰)	<b>0.53</b>	<b>0.31</b>	<b>0.22</b>	<b>0.08</b>	<b>0.85</b>	<b>0.43</b>	-	-	
	Legislation limits <sup>a</sup> (mg/kg DW)	100		100		300		2		

Values are the average (Mean) and standard deviation (Std) of twelve pre-cultivation (Ti) and three final (Tf) soil samples.

<sup>a</sup> European Directive of 19 December 2006 for human consumption, NF U44-041. “-“ ,below detection limit.

\* , significant differences ( $P \leq .05$ ) between Ti and Tf values (analysis of variance and post hoc Tukey test). Lability ratio, amounts of labile fractions expressed as per mills of the corresponding total contents.

### 3.3 Vegetable crop biomass

Unsurprisingly, the biomass produced by the end of the experimental period varied tremendously according to the plant species (Fig. 1). The cropping modality (monoculture or association of vegetable crops with phytostabilizing plants) also impacted biomass production in most cases. But for tomato and potato plants, which remained unaffected by the presence of nearby phytostabilizing plants, aerial biomass production was negatively affected as a result of the co-cultivation (Fig. 1). The most sensitive plant species was leek, in which both the underground and aboveground biomasses were negatively affected by the phytostabilizing plants ( $p \leq 0.05$ ).

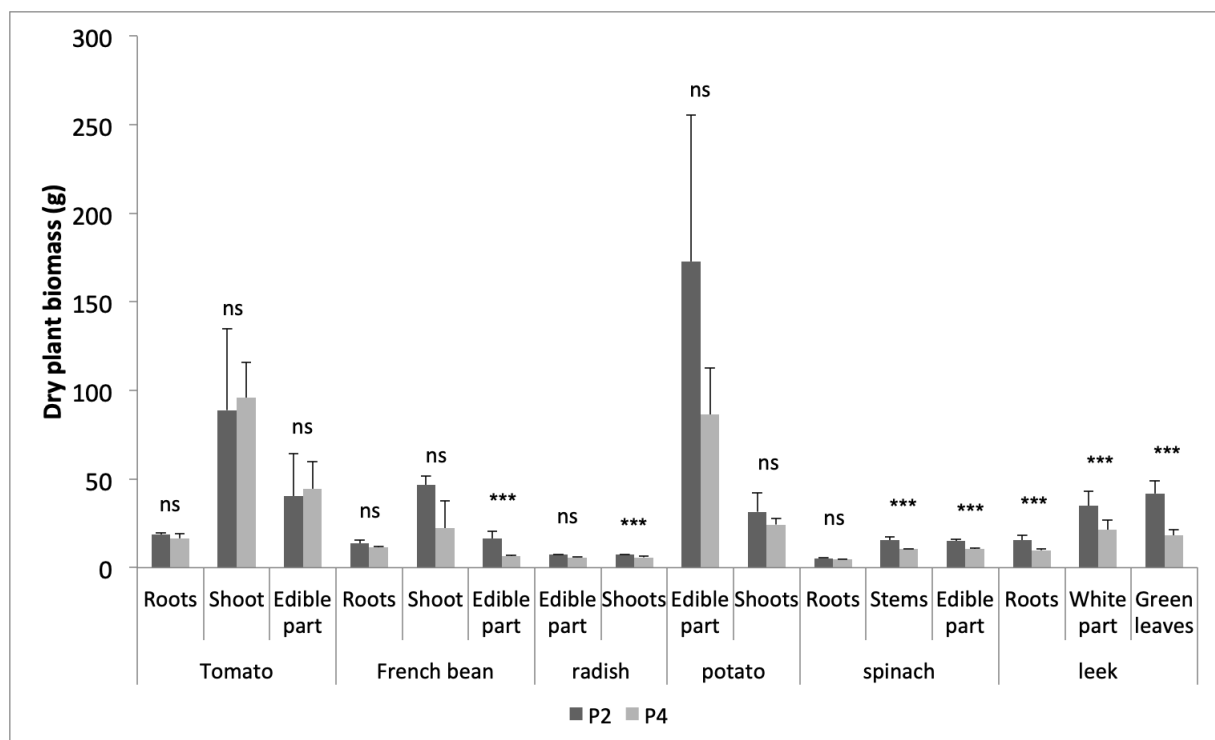


Fig 1. Dry biomass (g) of the different parts of vegetable crops (a, Tomato; b, French bean; c, Radish; d, Potato; e, Spinach; f, Leek) grown as monocultures (P2) or in association with phytostabilizing plants (P4). Values are means  $\pm$  standard deviation of three replicate plants. \* are significant differences ( $p \leq .05$ ; analysis of variance and the post hoc Tukey test) between P2 and P4 modalities.

### 3.4 Trace element concentrations in plants

#### 3.4.1 Trace element concentrations in the phytostabilizing plant species

The TE concentrations in the above- and belowground parts of the two studied phytostabilizing plant species (ryegrass and white clover) were highly element-dependent and were, in decreasing order of importance,  $Zn > Pb > Cu > Cd$ , in both species (Table 3). Ryegrass plants had Pb, Cu and Zn contents significantly higher (at least six times,  $p \leq 0.05$ ) in the roots than in the shoots (Table 3). This trend was also observed in white clover even

though the differences in TE contents between below and aboveground biomasses were not significant ( $p \leq 0.05$ ). Significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between the two phytostabilizing species concerned the Zn contents, which were higher in the roots and shoots of white clover plants compared to ryegrass plants (Table 3). The TE concentrations measured in the plants were used to calculate accumulation factors, *i.e.*, EF and BCF (Table 4).

Table 3. Concentrations (mg/kg DW) in Cd, Cu, Pb and Zn in the shoots and roots of two phytostabilizing plant species (ryegrass and white clover). Data represent means  $\pm$  standard deviation ( $n=3$ ).

	Cd		n	Cu		n	Pb		n	Zn		n
	Roots	Shoots		Roots	Shoots		Roots	Shoots		Roots	Shoots	
Ryegrass	2.2 $\pm$ 0.9	2.2 $\pm$ 1.5	n	65.3 $\pm$ 33.2	7.5 $\pm$ 1.2	*	103.5 $\pm$ 50.2	4.7 $\pm$ 2.3	*	601.0 $\pm$ 237.3	170.6 $\pm$ 20.1	*
White	1.5 $\pm$ 0.9	0.4 $\pm$ 0.3	n	34.6 $\pm$ 29.1	8.4 $\pm$ 2.5	N	39.1 $\pm$ 54.7	4.7 $\pm$ 4.4	n	208.2 $\pm$ 108.5	61.5 $\pm$ 23.1	ns
P value	ns	ns		ns	ns		ns	ns		*	*	

\* and ns significant ( $P \leq .05$ ) and non-significant ( $P > .05$ ) differences (analysis of variance and post hoc Tukey test), respectively.

Table 4. Enrichment factors (soil to plant part, EF) and bioconcentration factors (soil to plant, BCF) in the phytostabilizing plants grown as monocultures (P3). Data represent means  $\pm$  standard deviation ( $n=3$ ).

		EF			
		Cd	Cu	Pb	Zn
Ryegrass	Roots	0.27 $\pm$ 0.11	0.64 $\pm$ 0.33	0.11 $\pm$ 0.05	0.44 $\pm$ 0.17
	Shoot	0.27 $\pm$ 0.18	0.07 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.00	0.12 $\pm$ 0.02
	P-	ns	*	*	*
White clover	Roots	0.19 $\pm$ 0.12	0.34 $\pm$ 0.29	0.04 $\pm$ 0.06	0.15 $\pm$ 0.08
	Shoot	0.07 $\pm$ 0.00	0.08 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.02
	P-	ns	ns	ns	ns
		BCF			
Ryegrass		Cd	Cu	Pb	Zn
		0.27 $\pm$ 0.12	0.29 $\pm$ 0.30	0.04 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.08
White clover		0.10 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.11	0.02 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.04
	P-	ns	ns	ns	*

\* and ns, significant ( $P \leq 0.05$ ) and non-significant ( $P > 0.05$ ) differences between roots and shoot EF values and between plant species BCF values, respectively (analysis of variance and post hoc Tukey test).

### 3.4.2 TE concentrations in the non-edible parts of the vegetable plant species, as impacted by phytoremediating species

The TE concentrations in the non-edible plant parts were above method LOD (supplementary data SD2, SD4). Very much like in the phytostabilizing species, Zn was the major TE (between 54.6 mg/kg DW and 498.89 mg/kg DW for all species), followed by Pb (between 3.4 mg/kg DW and 75.4 mg/kg DW for all species) and Cu (between 9.2 mg/kg DW and 71.4 mg/kg DW for all species) and finally Cd (between 0.5 mg/kg DW and 5.4 mg/kg DW for all species), in the non-edible plant parts. Distribution of TE between plant aboveground and

belowground parts was species-dependent, with species, like potato, showing greater amounts of all TE in the shoots, whereas leek plants accumulated TE preferentially in the roots (supplementary data SD4). In some instances, the association with phytostabilizing plants significantly increased TE accumulation and changed TE distribution, in comparison with monocultured plants (supplementary data SD4): the roots of spinach and leek plants showed 2 to 3 times more Cd ( $p \leq 0.05$ ), the roots and shoots of French bean and potato plants had 2 times more Cu ( $p \leq 0.05$  and  $p \leq 0.01$ ), the shoots of potato plants had 2 times more Pb ( $p \leq 0.05$ ). On the other hand, phytostabilizing plants significantly limited the acquisition of Pb by leek roots ( $p \leq 0.01$ ) and French bean shoots ( $p \leq 0.05$ ), as compared with monocultured plants. Finally, the presence of the phytostabilizing plants induced an overaccumulation of Zn in radish aboveground biomass ( $p \leq 0.05$ ), as compared with monocultured plants. Strong correlations between TE labile fractions ( $C_{DGT}$ ) and TE concentrations in the shoots of vegetable crops associated with associated with phytostabilizing plants were found ( $R^2 > 0.65$ ), for Cu and Pb only (supplementary data SD3).

### 3.4.3 TE concentrations in edible plant organs as impacted by phytoremediating species

TE concentrations were measured in the edible plant parts of fruit/podded vegetable plants (tomato, French bean), leafy/stem vegetable plants (spinach, leek) and root/tuberous vegetable plants (radish, potato) (supplementary data SD4). Average concentrations for Cd, Cu, Pb and Zn in all the edible parts were 1.1 mg/kg DW, 9.1 mg/kg DW, 2.7 mg/kg DW and 119.7 mg/kg DW, respectively. No significant impact ( $p \leq 0.05$ ) of the cultivation mode on TE contents in the edible parts was observed (supplementary data SD4). The TE concentrations measured in plants were used to calculate accumulation factors, *i.e.*, BCF and EF (Table 5, Fig.2).

Table 5. Bioconcentration factors (soil to plant, BCF) in the vegetable crops grown as monocultures (P2) or in association with a phytostabilizing plant species (P4).

	Cd			Cu			Pb			Zn		
	P2	P4	P-value	P2	P4	P-value	P2	P4	P-value	P2	P4	P-value
Tomato	0.04±0.01	0.15±0.49	ns	0.02±0.01	0.48±0.23	*	0.005±0.003	0.021±0.016	ns	0.10±0.02	0.14±0.09	ns
French bean	0.03±0.00	0.20±0.04	**	0.02±0.00	0.42±0.21	*	0.004±0.001	0.016±0.008	ns	0.07±0.00	0.09±0.01	*
Radish	0.05±0.02	0.13±0.09	ns	0.05±0.01	0.44±0.29	*	0.02±0.003	0.017±0.017	ns	0.22±0.01	0.10±0.06	*
Potato	0.02±0.01	0.13±0.01	***	0.02±0.00	0.41±0.03	***	0.007±0.001	0.024±0.003	***	0.09±0.01	0.10±0.02	ns
Spinach	0.04±0.01	0.54±0.16	**	0.02±0.01	0.38±0.10	**	0.007±0.002	0.013±0.003	*	0.32±0.02	0.20±0.01	*
Leek	0.05±0.02	0.48±0.05	***	0.02±0.01	0.18±0.07	*	0.004±0.001	0.002±0.001	*	0.06±0.01	0.05±0.02	ns

\*, \*\*, \*\*\* and ns, significant ( $P \leq .05$ ,  $P \leq .001$ ,  $P \leq .0001$ ) and non-significant differences ( $P > .05$ ) between BCF plant species values respectively (analysis of variance and post hoc Tukey test).

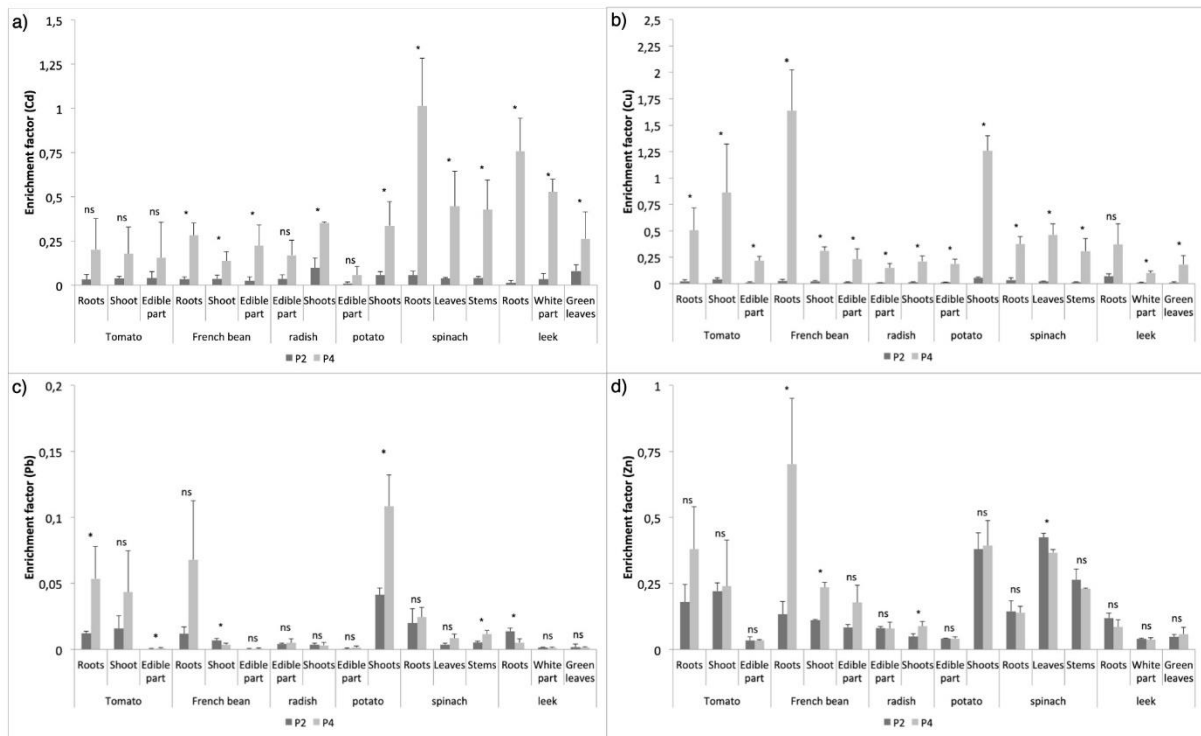


Fig 2. Enrichment factors (soil to plant part, EF) for Cd, Cu, Pb and Zn, in the various parts of vegetable crop plants (tomato, French bean, radish, potato, spinach and leek) grown as monocultures (P2) or in association with a phytostabilizing plant species (P4). Values are means  $\pm$  standard deviation of three EF replicates. \* and ns are significant ( $P \leq .05$ ) and non-significant differences ( $P > 0.05$ ) respectively (analysis of variance and the post hoc Tukey test).

## 4 Discussion

The objectives of the present work were to test, under field conditions, the intercropping of common vegetable plants (French bean, leek, potato, radish, spinach, tomato) with acknowledged phytostabilizing plant species (ryegrass, and white clover), as an example of ‘combined phytoremediation and food production strategy’ (CPFP) strategy, to produce safe foodstuff from an urban polluted anthrosol (Haller and Jonsson 2020). According to various average Zn, Cd, Cu and Pb concentrations measured in France and in the Ile-de-France Région used as reference values (NF U44-041; Mathieu *et al.* 2008), our results indicated that the superficial soil at the La Pierre-Fitte site was very highly polluted. This was explained by the anthropogenic activities of the recent past, essentially consisting in illegal depositions of various materials, some of them containing TE contaminants and resulting in the present complex and heterogeneous substrate.



The neutral to alkaline pH, the relatively high CaCO<sub>3</sub> % and low organic matter % were also a result of the presence of vast amounts of anthropogenic residues like bricks and concrete (Craul, 1999). These characteristics suggested a low mobility for TE (Kumpiene *et al.* 2007; Wong *et al.* 2007; Antoniadis *et al.* 2017). Indeed, TE root-soil interfacial concentrations in the La Pierre-Fitte soil, measured using Diffuse Gradient in Thin films (Davison and Zhang 1994) and herein named the labile TE fractions (C<sub>DGT</sub>) were very low. For example, the Pb labile fractions at the La Pierre-Fitte site were equivalent to those found in some Chinese urban soils that were 9 to 12 times less polluted than our study site (and the La Pierre-Fitte Cu and Zn labile fractions were approximately ten times smaller than the Chinese ones (Xu *et al.* 2019). When TE labile fractions were compared with the respective total contents, the very small lability ratios obtained indicated extremely slow rates of metal release from the solid phase (Zhang *et al.* 1998; Luo *et al.* 2014). This was mostly true for Pb, with a lability ratio lower than that of Cu, despite total contents 2 to 3 times higher than those of Cu. These results indicated that total TE content was not the prevailing factor determining the mobility of TE at the La Pierre-Fitte site. Limitation of TE mobility could result from the presence of colloidal TE species and large TE complexes with poor diffusion coefficients (Luo *et al.* 2014), presumably in relation with plant roots. In effect, the soil kept bare lost major amounts of labile Cu and Pb over the few months of the experiment, most likely through a combination of leaching, surface runoff (Pérez-De-Mora *et al.* 2007) and wind erosion (Pinto *et al.* 2014). Despite the poor agronomical characteristics of the Pierre-Fitte soil (sandy calcareous soil with negligible silt) and its high levels of TE pollution, a great diversity of vegetable crop species managed to grow and complete their reproduction cycle. Even though the mobility of TE in the soil was characterized as poor, all four TE were found in both the underground and aboveground biomasses of all plant species. In accordance with the heavy Zn pollution in the La Pierre-Fitte soil, this TE was found in the largest amounts in vegetable crop biomass. Furthermore, values of the BCF<sub>Zn</sub> index, which evaluates the transfer potential of a metal from soil to plant, were the highest for Zn, in vegetable crops cultivated alone (BCF<sub>Zn</sub> max = 0.316). All this could be viewed as a confirmation of the relatively high mobility of Zn in soils and within plants (Alloway and Ayres 1998; Carvalho Bertoli *et al.* 2012; Douay *et al.* 2013) despite the limitations to Zn mobility discussed above. Even though soil total Pb and Zn contents were equivalent, Pb was found in lesser quantities in the soil solution and in the plant tissues than Zn and BCF<sub>Pb</sub> values were the lowest of all (BCF<sub>Pb</sub> max = 0.047). This also concurred with several other studies that concluded on the poor mobility of Pb from soil to plant (Wang *et al.* 2005; Douay *et al.* 2013) and with Pb low %lability observed in this study.

Contrary to Pb, Zn is an essential element. As such, it is absorbed through dedicated transport systems while Pb is taken up via transport system specific of other elements, a phenomenon that could contribute to the lower accumulation of Pb than of Zn in the plant tissues (Pourrut *et al.* 2012; Uchimiya *et al.* 2020). This was observed for Cu, another essential TE, for which  $C_{DGT}$  values were below those of Pb, whereas plant Cu contents were equivalent or higher than Pb contents, particularly in the aerial organs. In addition, plant Cu contents correlated well with Cu labile fractions in the La Pierre-Fitte soil, confirming the usefulness of  $C_{DGT}$  measurements as more effective predictors of plant TE contents than either soil solution or total contents, particularly in situations of very heavy pollutions as is the case in this study (Zhang and Davison 2006). Despite the presence of all four TE in the tissues of the vegetable crops, none qualified as a strong accumulator of Zn, Pb, Cu or Cd, as was previously observed (Cobb *et al.* 2000; Banat *et al.* 2005; Alexander *et al.* 2006; Douay *et al.* 2013).

The amounts of Cd, Pb and Zn authorized in plant foodstuffs by the European Union (EU regulation 1881/2006, Dec 19, 2006) and the Chinese Food Hygiene Standard, given in mg/kg FW in the respective regulations, were expressed in mg/kg DW, based on 95% humidity in each legume type. They were then compared with the amounts of TE found in the edible plant parts of the vegetable crops grown in monoculture at the La Pierre-Fitte site. As there is no accumulation thresholds established for Cu by the EU or the Chinese authorities, it was not possible to compare Cu contents with official regulations. Concerning Cd, Pb and Zn, our results showed that none of the vegetables grown at the La Pierre-Fitte site fully complied with the standards currently used for human consumption of these TE. We observed that the two fruit-type vegetables, tomatoes and French beans, and potato tubers were contaminated with Cd only, whereas all other edible parts contained unacceptable concentrations of at least two TE. The relatively lower amounts of TE in potato tubers and fruit-types vegetables have previously been observed (Säumel *et al.* 2012; Warming *et al.* 2015; Säumel *et al.* 2012; Warming *et al.* 2015).

The contaminations found in the vegetable plants grown at the Pierre-Fitte site fully justified our CFPF strategy with the phytostabilizing species ryegrass and white clover (Haller and Jonsson 2020)(Wong 2003; Yoon *et al.* 2006; Wuana and Okieimen 2011). Both were previously reported as efficient phytostabilizing species (Lopareva-Pohu *et al.* 2011; Aslam *et al.* 2015; Chen *et al.* 2015). As a further confirmation of this, the TE concentrations measured here in the phytostabilizing plants were generally higher in the roots than in the shoots (Wong 2003; Yoon *et al.* 2006; Wuana and Okieimen 2011), a TE distribution well reflected in the

EF values, as was previously observed (Bidar *et al.* 2007, 2008, 2009; Lambrechts *et al.* 2014; Lanier *et al.* 2016). Furthermore, the EF and BCF values measured for Pb were much lower than for the other three TE, a further indication of the generally poor mobility of this element within the soil/plant continuum (Douay *et al.* 2013).

Contrary to our expectations, the presence of the phytostabilizing plants had a general significant positive impact on soil-to-plant TE transfer factors, particularly on the soil-to-root transfer factors for Cd and Cu, which reached values  $>1$  in some instances. Similar results have been observed in grapevines intercropped with grasses in order to limit Cu bioavailability (De Conti *et al.* 2019). The authors assumed that the additional root Cu was enriched as Cu-complexes in the apoplasm, as a mechanism to prevent transfer to the shoots. At the La Pierre-Fitte site, co-cropping with phytostabilizing plants also translated into significant increases in root TE accumulation in French bean, spinach and leek plants. However, the precise forms and localization of the TE in the roots have not been studied. Nor did the soil processes that led to increased amounts of TE at the roots. But since the phytostabilizing plants had no impact on soil TE labile fractions, their effects on vegetable crop root TE contents most likely operated through changes in the type, amount and function of secretions and enzymes by roots (Pivetz 2001; Xia *et al.* 2018), and possibly through changes in the abundance and diversity of soil microbes (Zimmer *et al.* 2009; De Maria *et al.* 2011). These in turn, could modify the physico-chemical and biological properties of soils (Lin *et al.* 2018a).

In the literature, the rare reported co-cropping experiments to reduce TE contents in edible crops correspond to the CPFPP strategy that combines a hyperaccumulating species with a non-hyperaccumulating one (also named normal crop) (Tang *et al.* 2017; Haller and Jonsson 2020). The outcome of these experiments was either as intended (Whiting *et al.* 2001; Tang *et al.* 2017) or not (Li *et al.* 2009; Lin *et al.* 2018a). Our results fall in the second category since, the contamination levels in the edible plant parts of the vegetable crops grown at La Pierre-Fitte remained overall unchanged in the presence of the phytostabilizing plants even though few non-significant improvements were observed: a lowering of the Cd accumulation in radish roots and tomato fruits, and a reduction in the Pb contents in the aerial parts of leek, which concurred with the global loss in Pb absorption capacity by this vegetable plant species in the presence of phytostabilizing plants (Liu *et al.* 2005).

## 5 Conclusion

Clearly, the combination of plant species, such as vegetable crops and phytostabilizing plant species, was not pertinent in the context of the La Pierre-Fitte site with its poor sandy anthrosol containing very high levels of multiple TE (Cd, Cu, Pb and Zn). Furthermore, it is likely that the experiment was too short to allow the vegetable crops from taking advantage of the putative beneficial impact of the phytostabilizing species. Even though the soil pH was slightly alkaline, the association between the two types of plants globally enhanced TE accumulation in vegetable crops, rather than limiting it. As a result, plant growth was reduced. However, the non-edible plant parts were mostly affected by the presence of the phytostabilizing plants and in some instances, like with leek and Pb, limited accumulation in the edible parts was observed. It thus appeared that many combinations between phytostabilizing plant species and vegetable crops should be tried in order to find one that is suitable for each site.

## 6. Acknowledgments

The authors thank the Région Ile-de-France and its “Partenariat Institutions-Citoyens pour la Recherche et l’Innovation” or PICRI programme, the “Département du Val-de-Marne” and the Islamic Development Bank (IDB), for financial support.

## **Chapitre 2. EDDS assisted metal phytoextraction by *Brassica oleracea* and *Sinapis alba* in monoculture or co-culture.**

Kamal TOULAÏB<sup>1</sup>, Xavier LAFFRAY<sup>1\*</sup>, Thomas Z. LERCH<sup>1</sup>, Clarisse BALLAND-BOLOU-BI<sup>2</sup>, Luis LEITAO<sup>1</sup>, David Huguenot, Juliette LEYMARIE<sup>1</sup>, Ruben PUGA-FREITAS<sup>1</sup>, Anne REPELLIN<sup>1</sup>

1. Université Paris-Est Créteil Val de Marne, UMR 7618 Institute of Ecology and Environmental Sciences of Paris (IEES Paris), 61 avenue du Général De Gaulle, F-94010 Créteil cedex, France.

2. Laboratoire Eau Environnement et Systèmes Urbains (UMR MA 102, Université Paris-Est, Agro ParisTech), 61 avenue du Général De Gaulle, 94010 Créteil Cedex, France

3. Université Paris-Est, Laboratoire Géomatériaux et Environnement (EA 4508), UPEM, 77454 Marne-la-Vallée, France.

+ corresponding author: [xavier.laffray@u-pec.fr](mailto:xavier.laffray@u-pec.fr)

### **Abstract**

Phytoextraction involves the use of hyperaccumulating species with objective to transfer trace elements (TE) from contaminated soils to the aerial plant biomass. The influence of co-culture is still poorly studied, especially with chelators that increase of TE in the soil solution. In this study, potted experiments were conducted to investigate the effects of a co-culture system and ethylene diamine disuccinate (EDDS) on the growth and efficiency of TE phytoextraction of a urban soil by white mustard (*Sinapis alba*) with or without cabbage (*Brassica oleracea*). In addition, the abundance and the diversity of rhizosphere bacterial communities were assessed by qPCR and T-RFLP profiling. Results showed that co-culture significantly decreased the biomass of *B. oleracea* but did not affect *S. alba*, indicating that the latter did not suffer from competition for nutrients and other resources with *B. oleracea*. The total contents of Pb, Cd, Cr and Zn in all *B. oleracea* tissues were significantly higher in monoculture than in co-culture. The addition of EDDS in the soil resulted in an increase in the Cu, Pb, As, Cr and Zn content in the aerial part for *B. oleracea* but only in monoculture. The uptake of Cu, Pb, Cr and Zn was reduced when both species were intercropped except for As and Cd in the control treatment in *S. alba* shoot. The TE distribution in the plants was also significantly affected by EDDS except for Cd. A highest total content of As, Cu, Cr and Zn was found in *S. alba* shoot

whatever the treatment. The *S. alba* transfer factor (TF) values were generally greater than 1 except for Pb. The *Brassica oleracea* TF values for Pb and Cr were less than 1 whatever the treatment. The bioconcentration factor (BCF) values of *S. alba* and *B. oleracea* is less than 1 for all TE except for the Cd in co-culture for *S. alba* without EDDS. Overall, there was no influence of coculture nor EDDS on the rhizosphere bacterial communities abundance and diversity of each plant.

**Keywords:** Co-culture. EDDS. Phytoremediation. Trace Elements. Microbial communities

## ***Introduction***

Trace elements (TE) contamination of soils is a global problem posing significant threats to the environment due to modern farming practices, industrial activities and increased urbanization (Peters 1999). Urbanization and human population growth lead to soil contaminations with various pollutants including heavy metals and metalloids. The accumulation of TE in plants is a potential threat to human health (Kim and Kim, 1999; Türkdoğan *et al.*, 2003). Trace elements can integrate into the food chain through human body, leading to an increased incidence of chronic diseases such as deformity and cancer even at lower concentrations (Müller and Anke, 1994). Soil pollution by trace elements is thus a major problem that involves everyone.

Cleaning of polluted soils based on remedial plants (phytoremediation) is a promising technique that is of considerable interest. This process uses plant species to reduce, degrade or immobilize organic or inorganic soil pollutants. Several phytoremediation techniques have been developed such as, phytovolatilization, phytodegradation or phytoextraction. These methods are less expensive and allow increasing biodiversity in contaminated sites (Chaney *et al.*, 1997; Cunningham *et al.*, 1995; Krämer, 2005; ADEME, 2012). Phytoextraction is one of phytoremediation methods using plants to absorb and concentrate in aerial parts the contained pollutants. Several studies showed that phytoextraction is an alternative technique for the decontamination of polluted soils (Ali *et al.*, 2013; Pantola and Alam, 2014; Robinson *et al.*, 2015; Schwartz *et al.*, 2003; Selvam and Wong, 2009). The main limitation of these methods is the low availability of some metals resulting from their poor solubility (Balabane *et al.*, 2000; Brun *et al.*, 2001). Two phytoextraction strategies can be applied: assisted phytoextraction and continuous phytoextraction, the first one being the most developed (Salt *et al.*, 1998; Cooper *et al.*, 1999).

The assisted phytoextraction is performed in the presence of chelators and plants with high biomass and fast growth. Synthetic chelators, for example ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) or ethylene diamine disuccinate (EDDS) have been selected to enhance the accumulation of TE into the plants (Meers *et al.*, 2005). Experiments have shown that the application of synthetic chelators such as EDTA to soils increase the uptake and accumulation of lead (Pb) from roots to aerial parts (Huang *et al.*, 1997). However, several synthetic chelators and their complexes TE are toxic (Dirilgen, 1998; Sillanpää and Oikari, 1996). EDDS is an easily biodegradable synthetic chelator in soils with low toxicity to the environment with a high chemical affinity for Pb and thus reducing the risks of metal leaching into groundwater and other trace elements (Jaworska *et al.*, 1999; Kos and Leštan, 2003; Luo *et al.*, 2006a; Quartacci *et al.*, 2007; Song *et al.*, 2016). It is less toxic to the soil microbial community than EDTA and other chelating agents (Epelde *et al.*, 2008). Several authors (Evangelou *et al.*, 2007a; Hseu *et al.*, 2013; Luo *et al.*, 2006b) have demonstrated that EDDS is a good candidate for ecological phytoextraction of TE in contaminated soils.

The root surface plays an important role in the absorption of nutrients (Comerford, 2005). Various plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) associated with plant roots can have beneficial effects on plant growth and nutrition (Glick, 1995). Many microorganisms have been shown to tolerate TE in a variety of ways, including extracellular or intracellular exclusion, elimination, biosorption, precipitation and bioaccumulation mechanisms (Gadd, 2004; Whiting *et al.*, 2001). These microorganisms, through their metabolic activities, affect the soil environment, including the bioavailability and mobility of TE to the plant through acidification and redox modifications (Mench and Schwitzguébel, 2009; Salt *et al.*, 1998). Ghozlan (2003) found that rhizobacteria increase the availability of Ni in the soil, resulting in higher Ni accumulation by wall Alyssum. Whiting *et al.*, (2001) showed that microbes play an important role in Zn uptake by *Thlaspi caerulescens*. Microorganisms have the ability to improve the solubility of TE in the rhizosphere and can therefore affect hyperaccumulation. The work conducted by Lee *et al.*, (2014) in soils contaminated with heavy metals suggested that EDTA may limit soil microbial activity compared to EDDS.

Co-culture is one of the traditional methods of farm management, which has shown the improvement of land use efficiency (Zhang and Li, 2003). This method was used to remediate soils polluted by TE and had many advantages (Zhan *et al.*, 2016). It enables the used plants to effectively utilize soil, light, water and nutrient resources and reduces the number of pests and the transmission of disease (Borden *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018.; Ren *et al.*, 2017). The effect of co-culture and chelators on TE phytoextraction is not very well

documented. To our knowledge, the only study on the subject deals with the effect of EDTA and citric acid on co-culture of *Astragalus sinicus L.*, a leguminous plant and *Elsholtzia splendens Naki*, a Cu accumulator (Ni *et al.*, 2004). In this study, we tested the effect of EDDS and the association of fodder cabbage *Brassica oleracea*, vegetable proxy plant to white mustard, *Sinapis alba*, a phytoextractant plant on TE phytoextraction. Fodder cabbage (*Brassica oleracea*) is the most diverse species in the Brassica genus, which is important for human nutrition, with multiple cultivars that can be classified according to the morphology of their edible structures (Liu *et al.*, 2014; Parkin *et al.*, 2014). *Brassica oleracea* is a species that has a high biomass and is very tolerant of Cd, Zn, Cu, Tl, Pt and As (Cadmium, Zinc, Copper, Thallium, Platinum and Arsenic) and is able to accumulate high quantities and transport them to aerial tissues (Beř *et al.*, 2010; Kowalska *et al.*, 2004). It is used in the phytoremediation of soils contaminated by TE (Onieczka *et al.*, 2012; Shahandeh and Hossner, 2002) and is able to transfer Zn and Cd in the roots to the aerial parts where they are accumulated (Onieczka *et al.*, 2012). We tested the effect of co-cultivation of phytoextracting and edible plants and the addition of chelator (EDDS) on (1) plant biomass and physiology, 2) the uptake and translocation of trace elements from the polluted soil to the aerial parts and 3) the rhizosphere microbial communities. We hypothesized that co-cultivation of both plants could be more efficient in extracting trace elements from the soil while directing TE flux to white mustard (phytoextractrice) and not to cabbage (vegetable proxy) for consumption. Ideally, this approach should make it possible to define plant associations allowing the production of unpolluted vegetables in polluted soils, while carrying out a natural depollution at the same time as market gardening. This aspect is crucial to allow the rapid installation of urban agriculture in new sites, without waiting for a long time of soil restoration.

## ***Materials and Methods***

### ***Soil, plants and experimental design***

The soil used for the experiment was collected on a contaminated site located at Pierre-Fitte (Villeneuve-le-Roi, France). The study site, La Pierre-Fitte, is a 0.08-km<sup>2</sup> urban green area located in the southern suburbs of Paris, France (48°44'28.1"N; 2°26'13.9"E). It is a sandy soil (11.7±0.2% clay, 20.4±0.9% silt, 67.7±2.9% sand), with a a pH<sub>Water</sub> of 7.7±0.1, 33.1±1.7% of CaCO<sub>3</sub>, 4.6±0.3 % of C<sub>org</sub>, 0.4±0.1% of total N. The CEC<sub>Metson</sub> is low (0.37±0.01 meq.kg<sup>-1</sup>) as well as exchangeable nutrients : K<sub>2</sub>O = 0.14±0.01 g.kg<sup>-1</sup>; MgO = 11.3±0.2 g.kg<sup>-1</sup>; CaO= 0.01±0.01 g.kg<sup>-1</sup>; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Olsen= 0.11±0.01 g.kg<sup>-1</sup>. The TE concentrations



determined by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES, Spectro Blue) after strong acid digestion. Briefly, 0.5 g of each soil sample finely ground with an agate mortar was subjected to a succession of acid attacks in Teflon tubes. 7.5 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) (i.e. hydrogen peroxide) and 2.5 mL HNO<sub>3</sub> (67%) were added to remove organic matter from the soils. The 50ml mineralization bombs were placed in a SpeedWave® model heater covered at a temperature of 180 ° C for 50 minutes. A reference material (ediment LGC6139) was use as standard. A blank was made for each digestion to correct the measurements. Trace elements concentrations obtained were: 13±1 ppm of As, 164±39 ppm of Cu, 865±143 ppm of Pb, 709±61 ppm of Zn, 1±1 ppm of Cd and 23±2 ppm of Cr.

The pot experiment was conducted in a parcel of the Faculty of Science and Technology of Paris Est Créteil University (48 ° 47 '17 "North, 2 ° 26' 39" East) from July 8 to September 22, 2016. This study was conducted in polyethylene pots and installed with six treatments: (1) monoculture of *Brassica oleracea* (Control), (2) monoculture of *Sinapis alba* (Control), (3) co-culture of *Brassica oleracea* and *Sinapis alba* (Control), (4) monoculture of *Brassica oleracea* + EDDS, (5), monoculture of *Sinapis alba* + EDDS and (6) co-culture of *Brassica oleracea* and *Sinapis alba* (EDDS). Before the experiment, the soil samples air-dried and sieved through a 2 mm sieve. Each pot (12 cm in diameter and 21 cm in height, 2.5L) contained 1.5 kg of soil. Five seeds of both cultivars (*Sinapis alba* and *Brassica oleracea*) were sown in two conditions directly in the pots. Both crop conditions were cultured alone, either *Sinapis alba* alone or *Brassica oleracea* alone and in co-culture, *Brassica oleracea* + *Sinapis alba*. A total of 48 pots containing contaminated soils with or without EDDS. During the experiment, soil moisture was maintained with tap water daily. Twenty four days after sowing, half of the pots were added 3 mmol / kg of EDDS per pot for 52 days. The plants were harvested on September 22, 2016, 53 days after the addition of EDDS.

### ***Plant biomass and TE concentration in tissues***

At the end of the experiment, plants were harvested for analysis of TE accumulation in different organs (roots and aerial parts for forage cabbage), whereas white mustard (roots, leaves, stems and seeds pods). All plant samples were washed in tap water until the soil particles were completely removed and then rinsed with distilled water, dried in an oven at 60 °C to constant weight, and weighed in to determine the dry matter. After complete

dehydration of the samples in the oven, each sample was individually milled with a "Pulvérisette 14" (Fritsch) before analysis of the TE.

The wet digestion method was used followed by an ICP-OES. For each analysis, a 0.5 g ground sample was accurately weighed and digested with 5 ml of nitric acid (65% HNO<sub>3</sub>) and 2 ml of hydrogen peroxide (30% v / v H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). The 50ml beakers were placed on a heated heating plate at a temperature of 125 ° C for 4 hours. After 1 hour, the beakers were removed from the heating block and then 2ml of 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was added at the same temperature until the sample was completely digested. Heating was repeated 3-4 times with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> additions until the residue was clear or white. After complete cooling, the samples are filtered through Whatman n° 42 filter paper and adjusted to 50 mL with ultra-pure water and then filtered through a n° 45 syringe filter so that the acid content is lower at 10%, to be analyzed by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) for heavy metals and metalloids: As, Cd, Cr, Cu, Pb, and Zn. The quality of the results was validated thanks to the use of a reference material (tobacco leaves (INTC-OBTL-5, known concentrations in all the elements) and an internal standard (heterogeneous plant material: tomato) to check the Derived from the unit. A blank was taken for each digestion to correct the measurements. For each set of 13 samples, a blank of mineralization was used to evaluate the interference and cross-contamination.

The translocation factors (TFs) of each TE in both species were calculated according to the following equation:  $TF = C_{shoot}/C_{root}$ , where C represents the concentration in shoot and root, respectively (Wilson and Pyatt, 2007). The bioconcentration factors (BCF) were calculated according to the following equation:  $BCF = C_{plant}/C_{soil}$ , where C<sub>plant</sub> (mg/kg) is the trace elements concentration in plant, including the roots, stems and leaves, and C<sub>soil</sub> (mg/kg) is the heavy metal concentration in soil (Padmavathiamma and Li, 2007; Pyatt, 2007).

### ***Rhizosphere microbial communities characterization***

Total microbial genomic DNA was extracted from 250mg of bulk (non-planted pots) or rhizosphere (planted pots) soils using NucleoSpin® Soil kit (Macherey-Nagel) following the manufacturer instructions. DNA concentration was quantified using Quant-iT™ dsDNA High-Sensitivity Assay Kit (Invitrogen). Then, all DNA extracts were then diluted to 0.5 ng µL for subsequent analysis. Quantification of soil bacterial communities (Nunan *et al.*, 2015). Briefly, each reaction was carried out using previously described primers 341F/534R. qPCR were performed on a StepOne™ Real-Time PCR (Applied BioSystem) following the

following conditions: initial denaturation step at 94°C for 4 min, followed by 40 cycles of denaturation at 95°C for 10 sec, annealing at 60°C for 30 sec, extension at 72°C for 10 sec. Results were analyzed using StepOne V2.2.2 software.

Bacterial community structures was analyzed using T-RFLP fingerprinting as described by (Blaud *et al.*, 2015). Briefly, bacterial 16S rRNA gene were amplified using primers FAM labelled 63F and 1389R. A BioRad T100 thermal cycler was used for the amplification with the following programs: initial denaturation at 94 °C for 2 min, followed by 30 cycles of 94 °C for 30 s, 57 °C for 45 s, and 72 °C for 90 s, followed by a final extension time at 72 °C for 10 min. Bacterial PCR products were digested with restriction enzyme *AluI* (Thermo Fisher). After a desalting step, 2µl of PCR products were mixed with formamide containing 0.5% of LIZ500 internal size standard (Applied Biosystems,) and denatured at 94 °C for 3 min. Samples were electrophoresed on an ABI 3730 PRISM® capillary DNA sequencer (Applied Biosystems). Genetic profiles were analyzed using GeneMapper® v3.7 software (Applied Biosystems) as described by Blaud *et al.*, (2015).

### ***Statistical analysis of data***

Statistical analysis was carried out by using SPSS 20.0 statistical software. After normality verification (Shapiro test) comparison among treatments were performed with the analysis of variance (ANOVA), with the least significant difference at the 5% confidence level. Principal Coordinate Analysis (PCoA) performed on T-RFLP profiles rhizosphere bacterial communities were performed using the “ade4TkGUI” package (R software (version 2.12.0 R Development Core Team. 2008) in order to identify potential clustering in the microbial communities. The statistical validity of the association between treatment and variance of profiles were tested for significant relationships with the Monte Carlo Permutation Test with 9999 permutations.

## ***Results***

### ***Plant biomass***

The leaves are interesting organs in terms of phytoremediation since they constitute storage tanks for trace elements. Table 1 shows the plant biomass of the roots and aerial parts of *Brassica oleracea* and *Sinapis alba* (roots, stems, leaves and seeds pods). For *Brassica oleracea*, the biomass of the monoculture treatment was significantly higher than that grown

in the co-culture treatment. For *Sinapis alba*, there were no significant differences between plants grown in a monoculture and co-culture on the roots, stems, leaves and seeds pods whatever treatment. Compared with control and treated samples, the biomass of monoculture in *Brassica oleracea* was significantly higher than those grown in co-culture whatever organ. In addition, the treatment with 3mmol/kg of EDDS has a higher biomass than plants grown without treatment.

Table 1: Biomass of *Brassica oleracea* and *Sinapis alba* (g). Results of two-way Anova showing significance of the effect of co-culture and EDDS. Values are means  $\pm$  SD (n=4). NB: NS: not significant, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

		Monoculture	Co-culture	Monoculture +EDDS	Co-culture +EDDS	p-value	Effect of culture	Effect of EDDS	EDDS*
<i>B. oleracea</i>	Roots	1.33 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	0.27 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	0.98 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.32 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>	<0.001	***	NS	NS
	Shoots	10.84 $\pm$ 1.53 <sup>a</sup>	1.67 $\pm$ 1.62 <sup>b</sup>	13.69 $\pm$ 0.84 <sup>a</sup>	2.02 $\pm$ 1.75 <sup>b</sup>	<0.001	***	NS	NS
<i>S. alba</i>	Roots	0.95 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	0.87 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>	0.77 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	0.42 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	0.324	NS	NS	NS
	Stems	7.12 $\pm$ 2.24 <sup>a</sup>	7.70 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>	7.36 $\pm$ 1.31 <sup>a</sup>	7.21 $\pm$ 0.77 <sup>a</sup>	0.953	NS	NS	NS
	Leaves	1.89 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	1.36 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>	1.72 $\pm$ 0.91 <sup>a</sup>	0.91 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	0.325	NS	NS	NS
	Seeds pods	0.71 $\pm$ 0.75 <sup>a</sup>	0.60 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	1.13 $\pm$ 0.81 <sup>a</sup>	1.46 $\pm$ 0.122 <sup>a</sup>	0.521	NS	NS	NS

### **Total trace elements and metalloids content in the study plants**

The total metal contents in *Brassica oleracea* and *Sinapis alba* were presented in table 2 and 3. For *Brassica oleracea* (table 2), the content of Cu, Pb, As, Cd, Cr and Zn in shoot and root were significantly increased in system monoculture whatever treatment. Comparing the different plant parts (roots and shoot) between those grown in monoculture and co-culture, the TE are preferentially stored in the aerial part except for the Pb. The co-culture treatment resulted in a significant decrease in the total contents of TE in the roots and shoots. Concerning *Sinapis alba* specie (table 3) monoculture did not show statistically significant difference from co-culture for all the metals studied, except for Cu and Pb content in the root, which showed significantly higher uptake. The addition of EDDS also increased metals in

tissues whatever the culture mode for Cu and Pb except in roots. Co-culture treatment significantly decreased the total absorption of metals by *Sinapis alba* organs.

Table 2: Total metals (mg/kg MS) content of *Brassica oleracea* Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) between treatments. Results of two-way Anova showing significance of the effect of co-culture and EDDS. Values are means  $\pm$  SD (n=4). NB: NS: not significant, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

	Organ	Monoculture	Co-culture	Monoculture +EDDS	Co-culture +EDDS	p-value	Effect of culture	Effect of EDDS	EDDS* Culture
Cu	Roots	47.25 $\pm$ 26.85 <sup>a</sup>	8.39 $\pm$ 8.66 <sup>b</sup>	32.02 $\pm$ 10.70 <sup>ab</sup>	8.58 $\pm$ 9.03 <sup>b</sup>	0.011	*	NS	NS
	Shoots	36.14 $\pm$ 13.57 <sup>b</sup>	4.32 $\pm$ 4.49 <sup>b</sup>	417.94 $\pm$ 99.45 <sup>a</sup>	44.50 $\pm$ 53.00 <sup>b</sup>	<0.001	***	***	***
Pb	Roots	157.15 $\pm$ 42.77 <sup>a</sup>	38.53 $\pm$ 34.45 <sup>b</sup>	74.94 $\pm$ 6.53 <sup>b</sup>	33.43 $\pm$ 35.22 <sup>b</sup>	0.001	**	NS	*
	Shoots	44.09 $\pm$ 13.30 <sup>a</sup>	6.71 $\pm$ 3.67 <sup>b</sup>	65.83 $\pm$ 4.73 <sup>a</sup>	16.03 $\pm$ 18.61 <sup>b</sup>	<0.001	***	*	NS
As	Roots	1.93 $\pm$ 1.18 <sup>a</sup>	0.25 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	1.17 $\pm$ 0.77 <sup>a</sup>	0.88 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	0.063	NS	NS	NS
	Shoots	9.95 $\pm$ 8.25 <sup>ab</sup>	1.50 $\pm$ 1.44 <sup>b</sup>	18.29 $\pm$ 8.51 <sup>a</sup>	3.77 $\pm$ 5.20 <sup>b</sup>	0.022	**	NS	NS
Cd	Roots	0.66 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>	0.07 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.08 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	0.20 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.002	*	*	**
	Shoots	2.82 $\pm$ 4.18 <sup>a</sup>	0.50 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	1.35 $\pm$ 1.46 <sup>a</sup>	0.57 $\pm$ 1.08 <sup>a</sup>	0.504	NS	NS	NS
Cr	Roots	33.59 $\pm$ 10.59 <sup>a</sup>	4.39 $\pm$ 5.44 <sup>b</sup>	5.89 $\pm$ 1.15 <sup>b</sup>	3.78 $\pm$ 2.72 <sup>b</sup>	<0.001	**	**	**
	Shoots	48.63 $\pm$ 43.01 <sup>a</sup>	3.35 $\pm$ 1.61 <sup>a</sup>	57.81 $\pm$ 33.98 <sup>a</sup>	9.69 $\pm$ 16.19 <sup>a</sup>	0.056	**	NS	NS
Zn	Roots	119.78 $\pm$ 19.50 <sup>a</sup>	30.52 $\pm$ 26.78 <sup>b</sup>	72.91 $\pm$ 7.85 <sup>b</sup>	29.03 $\pm$ 25.78 <sup>b</sup>	<0.001	***	NS	*
	Shoots	580.05 $\pm$ 123.62 <sup>a</sup>	62.40 $\pm$ 56.18 <sup>b</sup>	668.08 $\pm$ 82.54 <sup>a</sup>	111.04 $\pm$ 132.10 <sup>b</sup>	<0.001	***	NS	NS

Table 3: Total metals (mg/kg MS) content in *Sinapis alba* in monoculture, coculture with or without EDDS Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) between treatments. Results of two-way Anova showing significance of the effect of co-culture and EDDS. Values are means  $\pm$  SD (n=4). NB: NS: not significant, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

	Organ	Monoculture	Co-culture	Monoculture +EDDS	Co-culture +EDDS	p-value	Effect of culture	Effect of EDDS	EDDS* Culture
--	-------	-------------	------------	-------------------	------------------	---------	-------------------	----------------	---------------

Cu	Roots	33.21±12.53 <sup>a</sup>	13.58±12.76 <sup>ab</sup>	17.08±10.48 <sup>ab</sup>	2.81±1.55 <sup>b</sup>	0.026	*	*	NS
	Stems	17.34±11.98 <sup>a</sup>	19.03±4.60 <sup>a</sup>	33.45±2.70 <sup>a</sup>	35.20±13.62 <sup>a</sup>	0.038	NS	*	NS
	Leaves	21.17±15.37 <sup>a</sup>	12.27±2.87 <sup>a</sup>	32.12±39.03 <sup>a</sup>	32.50±3.63 <sup>a</sup>	0.619	NS	NS	NS
	Seeds pods	3.88±4.07 <sup>a</sup>	3.43±1.63 <sup>a</sup>	12.56±11.96 <sup>a</sup>	17.72±16.01 <sup>a</sup>	0.182	NS	*	NS
Pb	Roots	104.16±13.09 <sup>a</sup>	58.25±39.28 <sup>ab</sup>	89.60±65.29 <sup>ab</sup>	12.78±4.89 <sup>b</sup>	0.043	*	NS	NS
	Stems	27.62±6.07 <sup>a</sup>	32.46±13.35 <sup>a</sup>	70.43±26.09 <sup>a</sup>	41.05±30.36 <sup>a</sup>	0.051	NS	*	NS
	Leaves	10.14±6.64 <sup>a</sup>	12.73±6.48 <sup>a</sup>	10.98±6.35 <sup>a</sup>	5.33±2.83 <sup>a</sup>	0.604	NS	NS	NS
	Seeds pods	0.60±0.62 <sup>a</sup>	0.55±0.25 <sup>a</sup>	1.70±0.98 <sup>a</sup>	3.03±4.06 <sup>a</sup>	0.256	NS	NS	NS
As	Roots	1.17±0.49 <sup>a</sup>	0.96±0.72 <sup>a</sup>	1.57±0.80 <sup>a</sup>	0.49±0.14 <sup>a</sup>	0.232	NS	NS	NS
	Stems	3.22±3.18 <sup>a</sup>	7.02±3.30 <sup>a</sup>	6.63±1.98 <sup>a</sup>	6.76±3.90 <sup>a</sup>	0.501	NS	NS	NS
	Leaves	1.15±0.25 <sup>a</sup>	1.78±1.28 <sup>a</sup>	2.30±1.19 <sup>a</sup>	1.24±0.48 <sup>a</sup>	0.398	NS	NS	NS
	Seeds p	1.44±1.61 <sup>a</sup>	0.32±0.28 <sup>a</sup>	1.20±1.26 <sup>a</sup>	1.59±1.49 <sup>a</sup>	0.549	NS	NS	NS
Cd	Roots	0.66±0.28 <sup>a</sup>	0.39±0.38 <sup>a</sup>	0.24±0.25 <sup>a</sup>	0.38±0.52 <sup>a</sup>	0.509	NS	NS	NS
	Stems	1.11±1.01 <sup>a</sup>	10.28±8.74 <sup>a</sup>	1.73±2.74 <sup>a</sup>	2.44±1.94 <sup>a</sup>	0.074	NS	NS	NS
	Leaves	1.13±0.64 <sup>a</sup>	0.78±0.73 <sup>a</sup>	0.84±0.78 <sup>a</sup>	0.46±0.12 <sup>a</sup>	0.721	NS	NS	NS
	Seeds p	0.12±0.13 <sup>a</sup>	0.11±0.06 <sup>a</sup>	0.64±1.05 <sup>a</sup>	1.52±2.08 <sup>a</sup>	0.282	NS	NS	NS
Cr	Roots	10.03±6.07 <sup>a</sup>	4.01±1.51 <sup>a</sup>	4.09±3.24 <sup>a</sup>	1.55±1.31 <sup>a</sup>	0.064	NS	NS	NS
	Stems	11.57±7.47 <sup>a</sup>	4.76±0.42 <sup>a</sup>	35.21±33.74 <sup>a</sup>	4.57±2.74 <sup>a</sup>	0.117	NS	NS	NS
	Leaves	4.54±2.04 <sup>a</sup>	4.64±2.37 <sup>a</sup>	8.09±5.23 <sup>a</sup>	1.88±0.29 <sup>a</sup>	0.220	NS	NS	NS
	Seeds pods	13.97±25.71 <sup>a</sup>	1.73±1.21 <sup>a</sup>	1.53±1.38 <sup>a</sup>	1.39±0.91 <sup>a</sup>	0.608	NS	NS	NS
Zn	Roots	126.13±53.94 <sup>a</sup>	60.15±45.75 <sup>a</sup>	113.25±83.41 <sup>a</sup>	20.25±4.74 <sup>a</sup>	0.097	*	NS	NS
	Stems	550.06±297.78 <sup>a</sup>	549.70±137.18 <sup>a</sup>	844.47±222.53 <sup>a</sup>	664.84±464.8 <sup>a</sup>	0.450	NS	NS	NS
	Leaves	515.19±229.86 <sup>a</sup>	373.97±127.76 <sup>a</sup>	357.17±278.83 <sup>a</sup>	244.14±67.05 <sup>a</sup>	0.508	NS	NS	NS
	Seeds pods	49.46±62.99 <sup>a</sup>	55.90±32.47 <sup>a</sup>	73.00±74.02 <sup>a</sup>	177.90±205.1 <sup>a</sup>	0.394	NS	NS	NS

## Translocation factor (TF) in *Brassica oleracea* and *Sinapis alba*

The translocation factor (leaf concentration/root concentration, TF) is a ratio that indicates the ability of a plant to accumulate metals from its roots to the aerial parts. TF values greater than 1 indicate translocation to the aerial parts of the plant. In our study, *Brassica oleracea* (Fig. 1a) had Cu, As and Zn values greater than 1, when grown in co-culture after EDDS addition. The other elements (Cd, Pb, Cr) have TF values less than 1. Concerning the translocation factor of *Sinapis alba* (Fig. 1b), no significant difference was observed between treatments except for Cu. The TFs were more than 1 both in monoculture and co-culture treatments in all metals except Pb. Comparing the two culture systems, co-culture recorded a TF values greater than 1 compared to monoculture whatever the treatment. For the control, the highest value was observed in the case of As, Cr and Zn in monoculture.

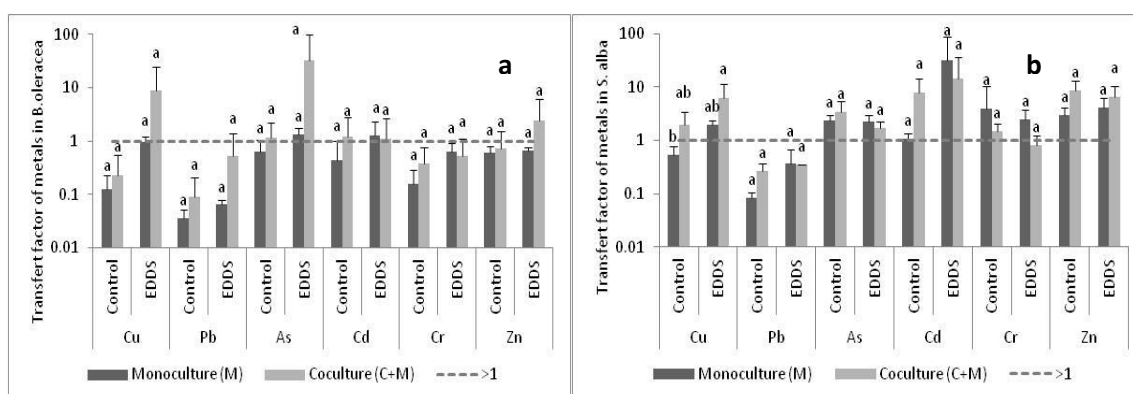


Fig 1: Transfer factor (TF) of *Brassica oleracea* (a) and *Sinapis alba* (b). Different capital letters shows significant ( $p < 0.05$ ). All values represent the mean  $\pm$  standard error (SE),  $n=4$ .

## Bioconcentration factor (BCF) in *Brassica oleracea* and *Sinapis alba*

The bioconcentration factor (BCF) was used to evaluate the efficiency of metals phytoextraction. The bioconcentration factor of *Brassica oleracea* has no significant difference and has values less than 0.7 whatever the treatment or culture system (Fig.2a). Similarly, the BCF values of As, Cd and Cr for EDDS treatments are higher in co-culture than in monoculture. Whatever the treatment, there is a low accumulation of metals ( $BCF < 1$ ). Concerning *Sinapis alba* (Fig.2b), according to these results, even they are generally small, the BCF varied according to metals and was systematically less than 1, whatever treatment and culture system except for the case of co-culture Cd (with control  $BCF = 1.28$  and treated

BCF = 1.08). Significant differences were observed at the Cr level and it was found that monoculture had higher BCF values than co-cultivation whatever culture system (Fig.2b).

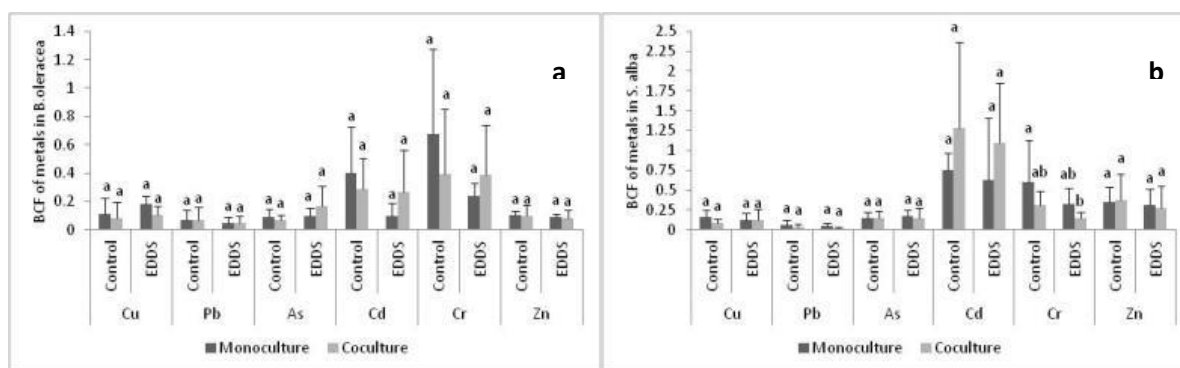


Figure 2: Bioconcentration factor (BCF) of *Brassica oleracea* (a) and *Sinapis alba* (b). Different capital letters shows significant ( $p < 0.05$ ). All values represent the mean  $\pm$  standard error (SE),  $n=4$ .

### ***Rhizosphere bacterial communities***

The qPCR analyses showed no effect of EDDS, nor of the type of culture on the number of 16 rRNA copies per gram of soil (Fig. 3). There was however 10 fold more bacteria in the rhizosphere than in the non planted soil, whatever the plant. The bacterial communities richness was lower in the rhizosphere of both plants than in the non planted soil, only in control conditions in monoculture. There was a higher bacterial richness in co-culture for *S. alba* in control conditions. Regarding the bacterial communities evenness, no difference where observed among treatments in rhizosphere of both plants. The bacterial communities evenness was higher than non planted soil in *Brassica oleracea* rhizosphere in co-culture and for *Sinapis alba* in all treatments except in co-culture without EDDS. The PCoA analysis on T-RFLP profiles did not revealed any difference among treatments (Fig. 4).



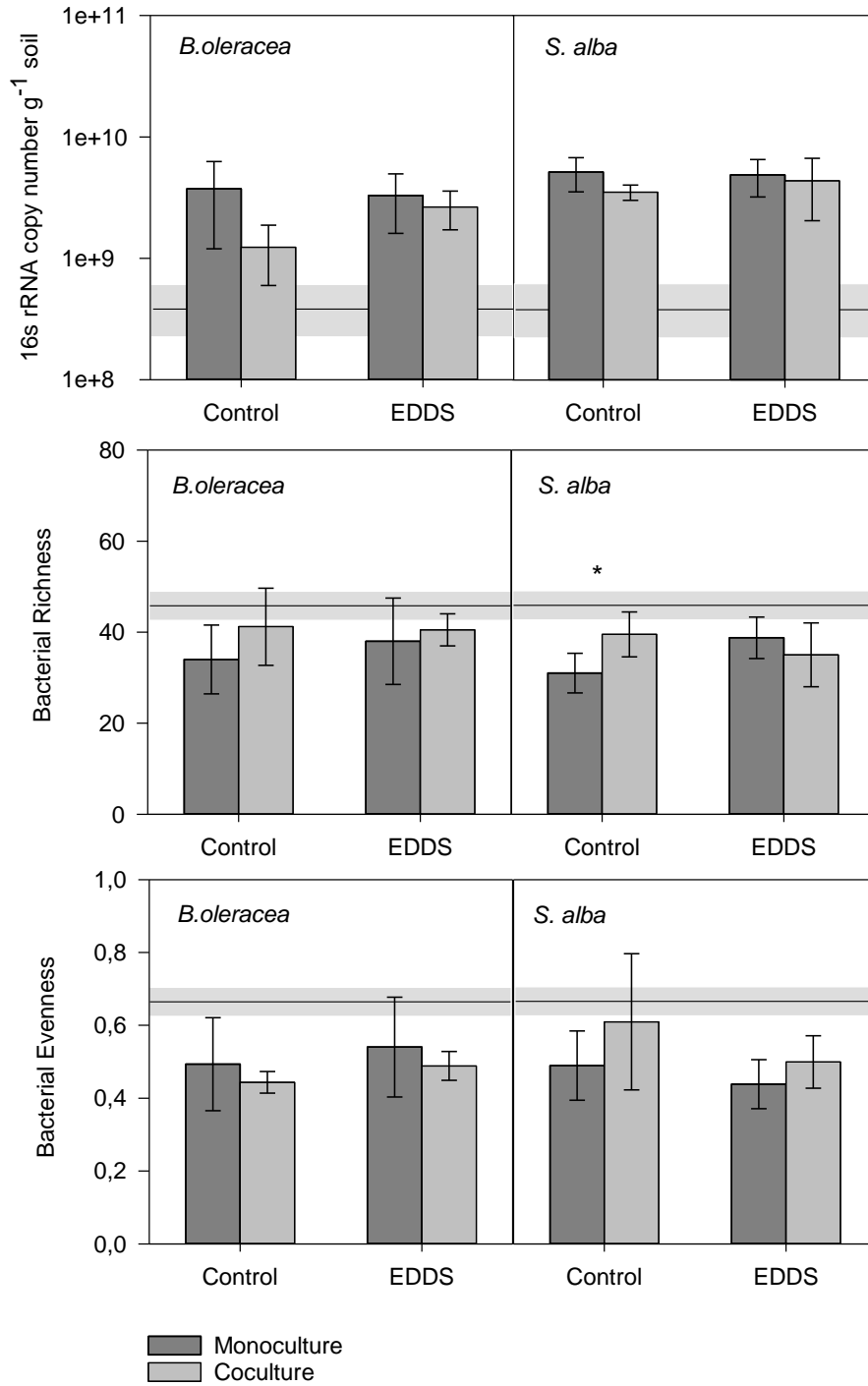


Figure 3: Abundance, richness and evenness of *B. oleracea* (left) and *S. alba* (right) rhizosphere bacterial communities in monoculture and coculture with or without EDDS. Monte Carlo test revealed no significant differences among treatments. The error bars are the standard errors of the mean (n=4). The grey band in the background represent the values of the bare soil (without plant). The star above the histogram indicate significant differences (P<0.05) between mono- and coculture.

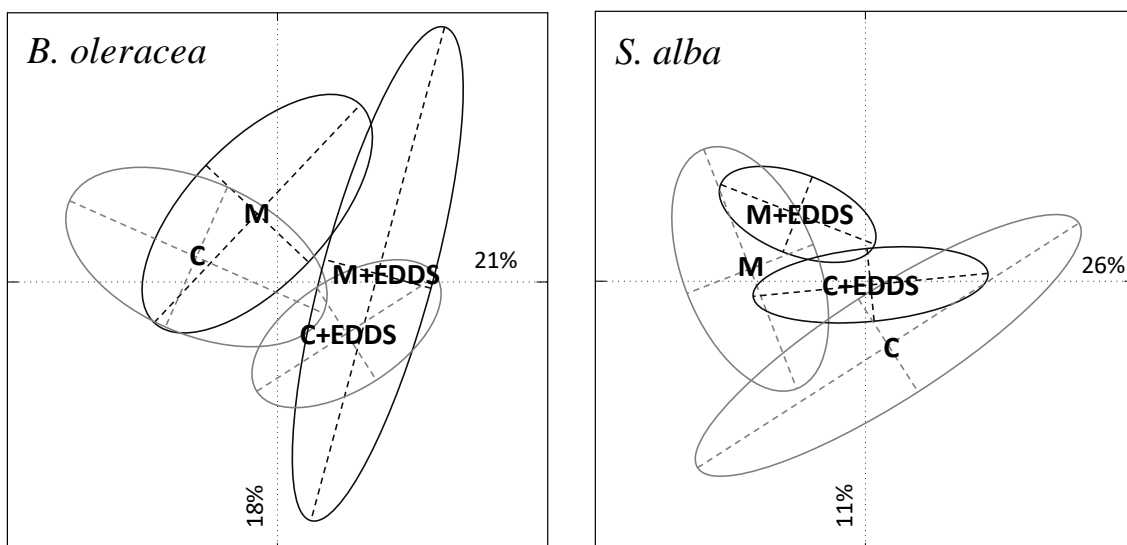


Figure 4: Principal Coordinate Analysis (PCoA) performed on T-RFLP profiles of *B. oleracea* (left) and *S. alba* (right) rhizosphere bacterial communities in monoculture (M), co-culture (C). Grey and dark grey lined ellipses (n=4) represent control samples or samples amended with EDDS, respectively. Monte Carlo test revealed no significant differences among treatments.

## Discussion

### *Plant biomass and associated microbial communities*

Co-culture with hyperaccumulator plants are able to remedy contaminated soils with trace elements by reducing the TE contents in crops for safe production (Whiting *et al.*, 2001, Liu *et al.*, 2005). Here, co-culture significantly decreased the biomass of *Brassica oleracea* compared with their respective monoculture whatever the organ tissues. This may be explained by the fact that the *Brassica oleracea* species is a bulky vegetable with thick leaves and is part of high yielding crops. Wang *et al.*, (2013) obtained similar results for *Lolium perenne* with *Ricinus communis* or *Lolium perenne* with *Sedum alfredii* species and suggested that both species in each case were associated. These authors have shown that the co-culture of both species resulted in a decrease in the aboveground biomass of *Sedum alfredii* compared to monoculture treatment (Wang *et al.*, 2013). In the contrast, others research suggest different results compared to our study. For instance, (Zu *et al.*, (2017) suggested that biomass increases in *Sonchus asper* and *Vicia faba* at Cd concentrations (0, 50, 100, 20mg.kg<sup>-1</sup>). Bian *et al.*, (2017) studied the co-culture of *Phyllostachys praecox* and a Cd/Zn

hyperaccumulator (*Sedum plumbizincicola*) in contaminated soils by Cu, Zn and Cd and suggested that intercropping system was increased biomass of *Phyllostachys praecox*.

According to our results from the *Sinapis alba* species, monoculture and co-culture systems produced identical biomass of whether aboveground or belowground, indicating that *Sinapis alba* did not suffer from competition for nutrients and other resources with *Brassica oleracea* or was probably due to the release of root exudates. This is due to the fact that *Sinapis alba* is a Cd, Zn, Cu, Tl, Pt and As tolerant as highlighted above (Bě *et al.*, 2010; Kowalska *et al.*, 2004). By applying EDDS, the biomass slightly increase for the two examined plant species. Wang *et al.*, (2012) tested the effect of EDDS on corn plants and obtained similar results. Similarly, Hseu *et al.*, (2013) applied two biodegradable chelators, EDDS and NTA to test for the accumulation of Cd by water spinach for phytoextraction, shoot height in the treatment of 2.5 and 5.0 mmol.kg<sup>-1</sup> and results of EDDS was significantly ( $P \leq 0.05$ ) lower than untreated ones.. Lee *et al.*, (2014) evaluated the effect of chelators on the growth of several species and showed that the addition of EDTA resulted in a decrease in plant biomass in *B. campestris*, *B. juncea* and *S. bicolor*. In the contrast, the addition of EDDS did not show a significant reduction in plant biomass compared to controls. According to Epelde *et al.*, (2008), EDDS reduced the biomass of bean and maize plants. Similarly, Zhao *et al.*, (2015) suggested a reduction biomass of soybeans when EDDS was added with different doses compared to EDTA.

The application of EDDS and the co-culture system had no significant effect on the rhizosphere bacterial communities, whatever the indicator measured (richness, evenness, or abundance). This suggests that EDDS concentration of 3mmol.kg<sup>-1</sup> did not have a negative impact on the activity of the soil rhizosphere bacterial communities. Ad mentioned earlier, EDDS is much less toxic and persistent as EDTA (Epelde *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2014).

### ***Total metals content in the study plants***

Total contents of Pb, Cd, Cr and Zn in all *Brassica oleracea* tissues (aboveground and belowground) were significantly higher ( $p < 0.05$ ) in monoculture than in co-culture (Table 2) but also the content of Cu and As these are only in the roots, which indicates that edible vegetable contamination by TE can be reduced when cocultured with a phytoextracting plant. This also can be explained by the fact that the biomass of *Brassica oleracea* was more significant in culture alone. Similar results were obtained by (Zhan *et al.*, 2016), intercropping of the Cd *Sonchus asper/Vicia faba* accumulator resulted in a decrease in Cd and Pb levels in plants and *V. faba* grains. Here, among the six examined TE in the root system, only Pb

recorded highest levels compared to other TE, more particularly in the control treatment. This could be explained by the fact that the accumulation of Pb in the roots is clearly important compared to the aerial part. These results are in line with previous studies (Seregin *et al.*, 2004; Sharma and Dubey, 2005) indicating that Pb is mostly absorbed in the roots in most case of species. Only a small proportion of Pb is transported to the aerial part of the plant. Glinska *et al.*, (2014) suggested that the application of EDTA increase the translocation of Pb in the aerial parts of *Pisum sativum* compared to EDDS, whereas the roots accumulated more Pb when EDDS was added. The other TE such as Cu, As, Cd, Cr and Zn have been transported to the aerial part to accumulate in the leaves, which presents a risk in case of consumption. Here, Zn was the most absorbed element by *Brassica oleracea*. Zinc is one of the most available nutrients that cabbage can accumulate and transfer to different parts of this vegetable (Radulescu *et al.*, 2013).

The addition of EDDS in the soil resulted in an increase in the Cu, Pb, As, Cr and Zn content in the aerial part for *Brassica oleracea* but only in monoculture (Table. 2). Therefore, according to our results, the co-cropping system with the addition of EDDS has great potentials for use on phytoremediation of trace elements on contaminated agricultural soils. In the case of *Sinapis alba* (Table. 3), absorption of Cu, Pb, Cr and Zn was reduced when the two associated species (see above) were intercropped except for As and Cd in the control treatment in shoot. This can be explained by the fact that *Sinapis alba* can also stress from the toxicity of the TE because the concentration of metals in the soil were very high and do not however ensure their role of hyperaccumulator. Since *Sinapis alba* has a short vegetative cycle, and the fact that our experiment exceeded three months, the amount of TE uptake decreases with the age of the plant. In maize for example, it appears that the transfer of Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn to the plant is interrupted at the end of the vegetative cycle (Tremel-Schaub and Feix, 2005; Gomez *et al.*, 1992). Arsenic plays a vital role in animal nutrition. At very low concentrations it can also be beneficial for plant growth (Gulz *et al.*, 2005). However, with a higher concentration, this element becomes dangerous for all plants (Xu and Thornton, 1985, Carbonell-Barrachina *et al.*, 1998, Gulz *et al.*, 2005) and can also cause serious problems in human health, namely skin and lung cancer, skin lesions and anemia (Gonzaga *et al.*, 2006, ATSDR, 2009). The accumulation of Arsenic on the plants is mainly observed on the roots (O'Neill, 1995; Gulz *et al.*, 2005). Abbas and Abdelhafez, (2013) studied the role of EDTA in the mobilization of As on maize with different doses (EDTA: 0, 1, 3.5, 5) and found higher bioconcentration factor (BCF) values in root parts compared to aerial and transfer factor (TF) less than 1.

The distribution of metals in the plants was also significantly affected by the application of EDDS except for Cd whatever of the organ. A highest total content of As, Cu, Cr and Zn were found in shoot in all analyzed *Sinapis alba* sample whatever the treatment. Similar results were obtained by Foucault *et al.*, (2013) when he studied green manure for the remediation of soils polluted by heavy metals and metalloids. They suggested that Cu and Zn were mainly present in the shoots of *Sinapis alba* and were not detected in the roots except at concentrations near to 2 mg.kg<sup>-1</sup>. Overall, these results showed that the application of EDDS caused a considerable increase in the accumulation of TE in plants grown in pots when grown in monoculture except for Cd in *Brassica oleracea* for aerial part. Stems of *S. alba* absorbed more Cu and Pb in monoculture when EDDS was applied. According to Zalewsk and Nogalska, (2014), white mustard can accumulate large amounts of zinc and is relatively resistant to high levels of zinc in the soil; therefore, it can be used for the zinc phytoextraction of moderately contaminated soils (about 200 mg Zn kg<sup>-1</sup> soil). Evangelou *et al.*, (2007) suggested that white mustard (*Sinapis alba* L) can grow on soil heavily contaminated with Cd and Pb. Cr is a metal commonly used in industry for specific alloys and is not an essential element for plants (Vernay *et al.*, 2007). Ours results indicate that *Sinapis alba*, a forage crop, may have significant potential for Cr phytoextraction. Popoviciu *et al.*, (2017) studied *Sinapis alba* L. under experimental hydroponic conditions under a nutrient solution containing 50, 100, 250 and 500 ppm Cr and found that *Sinapis alba* is tolerant to high levels of Cr and has hyperaccumulator abilities. Luo *et al.*, (2005) reported that the application of EDDS increased the uptake of Cu and Zn in corn and beans compared with EDTA.

### ***Phytoextraction efficiency (TF) and (BCF)***

In this study, the values of TF for *Sinapis alba* for TE and metalloids were generally greater than 1 with either the culture system or the treatment except for Pb (TF < 1). This suggested that *Sinapis alba* has a large capacity to absorb TE to its aerial part and that it can be used for phytoextraction for Cu, As, Cd, Cr and Zn. *Sinapis alba* also indicates a better translocation under the influence of EDDS. As for the bioconcentration factor (BCF) values, all the metals have BCF less than 1 except for the Cd in co-culture whatever treatment. Similar results were observed by Lee *et al.*, (2014) when they added EDTA and EDDS. They found higher values of BCFs in all plants and metals studied except in the case of Cd for *Helianthus annuus*. For *Brassica oleracea*, the TF values for Pb and Cr whatever the treatment and Cu in control were less than 1, indicating that the phytoremediation capacity of *Brassica oleracea* in Pb and Cr is lower. Regarding As, its absorption in the two plants is accumulated in the aerial parts with

TF>1. Glinska *et al.*, (2014) studied *Pisum sativum* in the presence of EDDS and EDTA and showed that the root Pb BCF was significantly higher in the presence of EDDS than EDTA, especially after 3 days of experience. On the other hand, the TF decreased when the EDDS was applied. Luo *et al.*, (2005) found a much higher Cu TF value than 1 in corn and beans when EDDS is applied compared to EDTA. According to this author, Cu can penetrate the roots of the plant and be transported to the shoots as a Cu - EDDS complex.

In terms of co-culture and EDDS treatment, the TF were larger in Cu, As and Zn when the EDDS treatment was applied in co-culture compared to monoculture in control. It can be explained that the *Brassica oleracea* plant grown in Pierre-Fitte soil has a health risk for human and animals. In this experiment, these results are in line with those obtained by Radulescu *et al.*, (2013) studying the accumulation and translocation of TE in different parts of *Brassica oleracea*. As highlighted by many studies, plant species have the potential of metal excluder if BCF <1 (Baker, 1981). The addition of 3 mmol.kg<sup>-1</sup> EDDS renders Pb of the plant significantly less effective. Zhao *et al.*, (2015) found that the increase in Cu, Cd, Pb and Zn uptake occurred when EDDS was added at 5mmol / kg compared with EDTA. They concluded that EDDS was more effective for Cu and EDTA for Cd. We found that the majority of TE is transferred to the aerial part. In our study, the co-culture resulted in a significant decrease in TE content in the compartments of *Barssica olercaea*.

### **Conclusions**

In this study, a pot experiment was conducted to investigate the effects of a co-culture system with *Sinapis alba* and *Brassica oleracea* and EDDS addition on the growth and efficiency of TE phytoextraction. The results obtained showed that the combination of the two species resulted in a significant decrease in total plant TE contents, except for Cd in the *Sinapis alba* plant and a decrease in the biomass of the plant whatever the treatment. The application of EDDS has significantly increased TE uptake in monoculture processing, particularly in shoots. But for co-culture with the addition of EDDS, there was a strong decrease in TE in *Brassica oleracea* and statistically a slight decrease in *Sinapis alba*. The present study showed that *Sinapis alba* and *Brassica oleracea* can grow on soil heavily contaminated with Cu, Pb, As, Cd, Cr and Zn. The application of EDDS and co-culture did not change the abundance or the diversity of rhizosphere bacterial communities. We can conclude that the co-culture between these two species offered a way to cultivate and depollute at the same time, especially on soils less contaminated by trace elements.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors thanks Camille Clowez (Master student at Sorbonne University) for her help and her enthusiasm in the lab. The Région Ile-de-France and its “Partenariat Institutions-Citoyens pour la Recherche et l’Innovation” or PICRI programme, the “Département du Val-de-Marne” and the Islamic Development Bank (IDB) for financial support.

## DISCUSSION GENERALE

Avec le développement économique mondial, le taux d'urbanisation a augmenté rapidement, en particulier dans les pays en développement. Les pays développés, comme l'Europe, connaissent également une emprise constante sur les surfaces couvertes (végétalisées). La diminution des surfaces végétalisées des sols concerne tous les types d'utilisation des terres tant en Chine qu'en Europe mais le taux de conversion en zones bâties est le plus élevé à partir des terres cultivées (SUITMA 7, 2013). En milieu urbain, certains sols peuvent être fortement modifiés par les activités humaines, ce qui modifie leur composition et leurs fonctions, et donc leur capacité à fournir des Services Ecosystémiques (SUITMA 7, 2013). L'ensemble des activités anthropiques peuvent entraîner des modifications des propriétés du sol (Schwartz *et al.*, 2013). Ces activités ne proviennent pas seulement de la vie quotidienne des résidents, mais aussi des activités de construction (Zhang et Kong, 2013).

Le jardinage est une pratique très courante dans de nombreux pays industrialisés et en développement. En France, les jardins s'étendent sur plus d'un million d'hectares, et nombre d'entre eux sont situés à l'intérieur d'espaces anthropiques (périurbains, urbains et/ou industriels). Cependant, le fonctionnement et la capacité des sols des jardins à soutenir la végétation et la biodiversité sont sous-estimés (Schwartz *et al.*, 2013).

L'accumulation des éléments traces métalliques dans les sols agricoles est de plus en plus préoccupante de nos jours. Les éléments traces métalliques peuvent pénétrer dans le corps humain par inhalation de poussière, consommation d'eau potable contaminée ou ingestion de sol ou de cultures cultivées sur des terres contaminées (Nabulo *et al.*, 2010). Le corps humain peut être exposé de trois manières principales aux éléments traces métalliques dans le sol : (1) absorption orale ; (2) absorption par contact cutané (exposition cutanée); et (3) l'inhalation de particules de sol (exposition respiratoire). Dans le système alimentaire, les légumes sont les aliments les plus exposés à la pollution environnementale. Les légumes absorbent les métaux lourds et les accumulent dans leurs parties comestibles et non comestibles en quantités suffisamment élevées (Liu *et al.*, 2016 ; Huang *et al.*, 2018).

Les analyses préliminaires des niveaux de contamination du sol de La Pierre-Fitte (site d'expérimentation) effectuées par le bureau d'étude Sol Paysage indiquaient une présence



généralisée d'éléments traces (surtout Pb, Cu, Zn et Cd) dans sa partie Nord. Suivant les rapports agro-pédologiques présentés par le Conseil Général 94 (2013 a, b,c) et l'Evaluation quantitative des risques sanitaires (EQRS, 2013), cette zone n'est pas compatible avec la mise en place d'un jardin potager ni avec la commercialisation de fruits ou légumes, au regard des valeurs réglementaires fixées par la norme CEE n° 1881/2006 pour le cadmium et le plomb. Une première expérience *in situ* a été menée dont les objectifs sont (1) d'évaluer le prélèvement des éléments traces par les plantes, (2) d'évaluer l'effet des associations (plantes potagères/plantes phytoremédiantes) sur l'accumulation des polluants dans les plantes, (3) d'évaluer l'impact des plantes sur la biodisponibilité et la mobilité des éléments traces dans les sols. Après les résultats de la première expérimentation *in situ*, nous avons constaté qu'il y avait une faible biodisponibilité des éléments traces du sol vers les parties aériennes. C'est dans ce contexte que nous avons ensuite réalisé une deuxième expérience en pots (conditions contrôlées) dont l'objectif principal était d'accélérer la phytoextraction des éléments traces par l'ajout d'EDDS et l'introduction de *Brassica oleracea* et *Sinapis alba*.

## **1 Caractérisation physico-chimique des sols d'étude**

### **Les propriétés du sol**

Les sols d'étude présentent des valeurs moyennes de pH et de CEC de 7,41 et 9,81meq/100g. Avec un pH alcalin, une faible CEC et une faible teneur en matière organique et en présence de  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  peut ainsi précipiter sous forme de carbonate de cadmium ( $\text{CdCO}_3$ ) réduisant sa solubilité (Bradl, 2004). Selon l'interprétation agronomique des valeurs de fertilité des sols selon Martin *et al.*, (1991) et Girard (2009), le pH des sols d'étude de La Pierre-Fitte est optimal (6,5-7,5) et une capacité d'échange cationique (<12 ou >40) défavorable sur le plan agronomique. Quand le pH du sol est supérieur à 7, la plupart des éléments ne sont pas biodisponibles pour les plantes (Bargagli, 1998). Un pH supérieur à 7, qui est l'un des facteurs clés qui influencent la mobilité des éléments traces dans le sol, a peut-être freiné la mobilité des éléments traces vers les parties aériennes. Les sols d'étude présentent aussi un taux de  $\text{CaCO}_3$  % (26,68), un taux de sable très élevé (89,5% en moyenne) et un taux d'argile de 9,75%. Selon Nyles et Ray (1999), les sols à forte teneur en sable et à faible teneur en argile ont un fort potentiel de lixiviation des métaux. Une capacité d'échange cationique (CEC) plus élevée rend donc les éléments traces moins assimilables par les plantes (Tremel-Schaub, 2005).

Concernant les concentrations moyennes du sol de la Pierre-Fitte, Pb et Zn enregistrent les valeurs les plus élevées (1128,4 et 1050,7mg/kg) dépassant largement la limite recommandée par la norme (NF U44-041). Nos résultats ne concordent pas avec ceux de Joimel (2015), qui a obtenu des valeurs moyennes de Pb et Zn avec des concentrations de 99 et 200mg/kg MS dans les sols de jardins familiaux repartis sur 26 sites de trois villes (Grand Nancy, Marseille et Nantes).

Malgré les mauvaises caractéristiques agronomiques du sol de La Pierre-Fitte (sol sablo-calcaire avec peu de limons) et ses fortes pollutions TE, une grande diversité d'espèces maraîchères a réussi à pousser et à boucler son cycle de reproduction.

## **1.2 Associations plantes potagères et plantes phytoremédiantes (extractrices et stabilisatrices)**

### **1.2.1 La biomasse sèche**

Le rendement en biomasse est un paramètre important pour évaluer le potentiel de la phytoremédiation (Atul *et al.*, 2012). Dans l'expérimentation *in situ*, les résultats obtenus montrent que la biomasse produite en monoculture (potagères seules -P2) est supérieure à celle produite en co-culture quel que soit l'organe considéré. Une étude similaire réalisée par Wu *et al.*, (2007) va dans le même sens que nos résultats et montre que la biomasse produite par *Sedum alfredii*, une espèce hyperaccumulatrice a été significativement diminuée lorsqu'il est cultivé avec le taro (*Alocasia marorrhiza*), une espèce non accumulatrice. Les mêmes résultats ont été observés par Lin *et al.*, (2014) selon lesquels la culture de *Conyza canadensis* L., *Digitaria sanguinalis* L., associée avec *Solanum nigrum* L. inhibe la croissance de semis de cerisiers. D'autres études ont suggéré des réductions des biomasses produites en cultures associées: Wang *et al.*, (2013) dans l'association Raygrass (*Lolium perenne*) et ricin (*Ricinus communis*), Huo *et al.*, (2018) avec *Solanum nigrum* L. et le maïs. Une des causes possibles à cela peut être dûe à la compétition pour la lumière, l'eau ou la concurrence des nutriments dans le système co-culture (Zeng *et al.*, 2019).

A l'inverse, les résultats obtenus par Wu *et al.*, (2019) ne corroborent pas ceux de notre étude. Ainsi, il a été observé que lorsque *Cyphomandra betacea* est associé avec les plantes légumineuses *Vigna angularis* et *Vigna radiatus* dans un sol contaminé par le Cd, la biomasse de *C. betacea* augmente par rapport à la monoculture quel que soit l'organe. Ce constat est vérifié par les travaux de Liu *et al.*, (2012) réalisés en champ. Ces auteurs ont montré que la biomasse de la co-culture entre le maïs (hyperaccumulateur), la tomate, le chou et les

légumineuses telles que le trèfle japonais, le soja et le niébé était supérieure que celle des espèces cultivées seules. Wang *et al.*, (2020) ont constaté aussi que la biomasse du blé a été réduite quand celui-ci est associé à *Solanum nigrum* L. dans un sol contaminé par le Cd. Ces résultats pourraient être que les plantes hyperaccumulatrices poussent plus vigoureusement que les cultures commerciales (plantes potagères) et concurrencent pour des nutriments, ce qui a entraîné une croissance plus faible pour les plantes potagères (Wang *et al.*, 2020). Les cultures associées peuvent favoriser les voies de communication de deux espèces végétales à travers les racines et augmenter la libération d'acides organiques et d'autres exsudats racinaires (Li *et al.*, 2019). Dans des conditions de culture associée, un changement significatif dans la quantité et la composition des exsudats racinaires des plantes dans le sol peut modifier les fractions des éléments traces dans le sol et la distribution des éléments traces entrant dans les plantes (Li *et al.*, 2019).

### **1.3 Cultures potagères en monoculture : faible absorption des éléments traces par les légumes fruits.**

Sur notre terrain, les plantes potagères (tomate, haricot, pomme de terre, radis, poireau et épinard) ont été cultivées seules sur la parcelle 2, (P2).

Suivant nos résultats, les concentrations en Cd dans les tomates et les poireaux (partie verte), en Pb dans le radis, l'épinard et le poireau, et en Zn dans l'épinard cultivés sur le sol de La Pierre-Fitte ont largement dépassé les seuils réglementaires des denrées alimentaires fixés par la directive européenne (2006) et les parties comestibles sont donc inconsommables. Les concentrations les plus élevées ont été mesurées dans les parties comestibles respectivement dans les tomates pour Cd, dans l'épinard pour Cu, dans les radis et l'épinard pour Pb, et dans l'épinard pour Zn. Nos résultats corroborent ceux obtenus par Douay *et al.*, (2013) pour les concentrations les plus élevées de Zn, Cd, Pb chez le haricot vert, tomate, radis, pomme de terre et poireau. Ils sont aussi en accord avec ceux de Pruvot *et al.*, (2006) chez le radis et poireau pour le Pb et ceux de Sadhu *et al.*, (2015) chez la tomate et épinard pour le Pb, Zn, Cu, Ni par rapport aux autres espèces. La pomme de terre accumule moins d'éléments traces que la carotte et moins que certaines Brassicacées dans leurs organes consommés (Douay *et al.*, 2013 ; Warming *et al.*, 2013). Ces mêmes auteurs ont suggéré d'une manière générale que les légumes fruits présentent les plus faibles concentrations en éléments traces ; ces plantes sont dites exclusives car elles transfèrent une faible contamination en vers leurs fruits, même quand ils sont à des concentrations élevées dans le sol (Tremel-Schaub et Feix, 2005 ; Khan *et*

*al.*, 2015). Pour les autres organes non consommés (feuilles de radis, racines de poireau, et racines, tiges et feuilles de tomate), les concentrations les plus élevées ont été trouvées dans les radis pour Cd, dans les poireaux pour Cu et Pb et dans les tomates pour Zn. Les résultats montrent une grande variabilité en fonction de l'espèce, de l'organe et du métal. Ces résultats sont en accord avec ceux de Senad *et al.*, (2018) ; Saleh *et al.*, (2017); Andal et Ching (2014) qui ont montré que les concentrations les plus élevées en Ni, Cr, Cu, Zn et Cd sont dans les parties non comestibles (racines et feuilles) de tomates et non dans les fruits. Des résultats similaires ont été obtenus par Kumar et Chopra (2014) sur l'accumulation des éléments traces chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*), c'est-à-dire que les concentrations dans les fruits étaient moindres par rapport aux parties non comestibles (racines, feuilles et tiges). Ceci peut indiquer que ces plantes possèdent des barrières empêchant le transfert de certains éléments (Cu, Zn, Co) des racines vers les parties aériennes, protégeant les parties comestibles de la contamination toxique (Tremel-Schaub et Feix, 2005; Mishra and Tripathi, 2008). Le Pb par exemple est immobilisé dans la paroi des cellules racinaires sous forme de pyrophosphate de Pb (de Haan et Visser-Reyneveld, 1996). Chaoui *et al.*, (1997) ont montré que la faible concentration d'un élément trace dans les fruits est peut-être due à l'augmentation du pH du sol car la plupart des éléments traces ne sont pas biodisponibles pour les plantes (Bargagli, 1998) ; ceci peut être une réponse protectrice naturelle de la plante (Chaoui *et al.*, 1997). De plus, la faible absorption des éléments traces a été observée dans les fruits de haricot et tomate, et nos résultats confirment ceux de Tremel-Schaub et Feix (2005). Notre étude a révélé que bien que toutes les parties comestibles (tomate, haricot, radis, pomme de terre, épinard et poireau) aient accumulés du Cd, Pb et Zn en dessous du niveau critique, la teneur en Cd était très élevée chez le haricot et le poireau dans la partie verte, ainsi que celles du Pb dans les tiges d'épinard et le radis, et du Zn dans les feuilles d'épinard.

Les légumes feuilles sont généralement des hyper accumulateurs (tels que épinards et laitues) de certains éléments non essentiels par rapport aux légumes non feuillés (légumes fruits et légumes racines). Les concentrations en éléments traces sont généralement dans l'ordre décroissante : légumes racines > légumes feuilles > fruits et graines (Tremel-Schaub et Feix, 2005). Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par Demirezen et Ahmet (2006) ; Muhammad *et al.*, (2008). Ces auteurs ont constaté que les concentrations des éléments traces étaient supérieures dans les légumes feuilles que les légumes racines et fruits. Une explication possible peut être liée à la croissance rapide et à un taux de transpiration élevé par rapport aux autres légumes favorisant l'accumulation des éléments traces dans les feuilles, ou liée aussi à

la contamination par les dépôts atmosphériques (Demirezen et Ahmet 2006 ; Muhammad *et al.*, 2008 ; Kim *et al.*, 2015). Ainsi le poireau et l'épinard expérimentés dans notre cas (Parcelle 2) ont des concentrations en Pb en dessus des seuils réglementaires de l'Union Européenne. On peut dire que ces légumes peuvent présenter des risques pour la santé humaine.

### **1.3.1 Facteurs de transfert (FT) en monoculture, seuls les légumes fruits ne dépassent pas la valeur fixée**

Généralement, les éléments traces ont la capacité de migrer du sol vers les tissus végétaux (Stasinou et Zabetakis 2013). Pour rappel, le facteur de transfert (FT) a été calculé comme le rapport entre concentration dans les parties aériennes (tiges, feuilles, fruits) et la concentration dans les racines (Wilson and Pyatt, 2007). Le FT est un indice qui évalue le potentiel de transfert du métal vers la plante. En ce qui concerne les facteurs de transfert dans le fruit de la tomate, toutes les valeurs sont inférieures à 1 excepté pour As et Ni. De même pour le haricot, l'As seul a un FT supérieur à 1.

Suivant nos résultats sur les légumes racines, les valeurs de FT sont généralement supérieures à 1 : par exemple, pour le Pb et le Zn chez le radis, pour le Pb chez la pomme-de-terre. Par conséquent, la plante de pomme de terre pourrait être considérée comme une espèce de phytoremédiation dans les sols pollués et nos résultats ne corroborent pas ceux obtenus par Mahmood *et al.*, (2014) qui ont trouvé des facteurs de transfert pour Cu, Pb, Cd, Zn et Ni inférieurs à 1. Le plomb est un élément peu mobile et par conséquent très peu disponible pour les plantes (Porrut *et al.*, 2011). Selon Wang *et al.*, (2006), il est beaucoup plus difficile pour le plomb de se déplacer vers la partie aérienne des végétaux. Et il a été démontré par plusieurs auteurs (Kumar *et al.*, 1995 ; Huang et Cunningham, 1996) que la plus grande partie de teneur en Pb absorbée par les plantes reste dans les racines et seule une faible proportion est transférée vers les parties aériennes. Le transport limité de Pb des racines vers les parties aériennes est dû à la barrière de l'endoderme des racines. Les bandes de Caspary de l'endoderme sont en effet le principal facteur limitant le transport de Pb dans le tissu cylindrique central (Sharma et Dubey, 2005). Les FTs >1 concernent As, Ni et Zn pour l'épinard, Cd et Ni pour la partie blanche du poireau et As, Cd et Ni pour la partie verte. En général, dans cette étude, les épinards ont des TFs pour Cd, Cu et Pb inférieurs à 1. Nos résultats sont en accord avec ceux de Mahmood *et al.*, (2014) qui ont trouvé des FT pour Cu, Cd et Pb inférieurs à 1 dans les épinards et pommes de terre. Ces résultats montrent aussi que

les valeurs de FT varient d'une espèce à l'autre. En résumé, (1) pour Cd, les valeurs de FT les plus élevées ont été déterminées chez le poireau dans sa partie verte ( $FT = 2,15 \pm 2,17$ ), tandis que les valeurs de FT les plus faibles étaient enregistrées dans le radis ( $FT = 0,39 \pm 0,14$ ) (2) les FT les plus élevés pour Pb ont été déterminés dans les pommes de terre ( $56,80 \pm 23,21$ ) et les plus faibles dans les légumes fruits (tomate et haricot :  $FT = 0,03$ ) (3) les FT les plus élevés pour Zn, ont été trouvés chez la pomme de terre ( $9,07 \pm 1,59$ ) et les plus faibles chez le poireau ( $0,35 \pm 0,08$ ). Nos valeurs ne sont pas en accord avec ceux de Douay *et al.*, (2013), qui ont trouvés des TF pour Cd, Pb et Zn inférieurs à 0.4 pour le radis, la pomme de terre, le haricot, la tomate et le poireau.

Généralement, Cu et Zn, qui sont des oligoéléments nécessaires pour l'homme, sont considérés comme moins dangereux pour la santé que Pb, Cd et As (Alexander *et al.*, 2006), mais une ingestion excessive peut également avoir des effets néfastes sur la santé humaine (Rahman *et al.*, 2014 ; Hu *et al.*, 2013). Le Pb, Cd et As sont des éléments toxiques et ne sont pas nécessaires à la croissance des plantes potagères ; ils sont stockés dans les racines et leur transport vers les parties aériennes de la plante reste limité (Yang *et al.*, 2009 ; Liu *et al.*, 2007). Les concentrations de As, Cd, Cu, Ni, Pb et Zn dans le sol étudié étaient supérieures à celles mesurées dans tous les légumes. Ceci est probablement dû au fait que l'absorption et l'accumulation des éléments traces par les plantes sont influencées par plusieurs facteurs, notamment la spéciation des métaux et les conditions pédoclimatiques, voire variété de l'espèce (Massas *et al.*, 2013 ; Waterlot *et al.*, 2013 ; Sharma *et al.*, 2007).

### **1.3.2 Facteur de bioconcentration**

Pour rappel, le Facteur de Bioaccumulation (BCF) a été calculé pour évaluer la capacité d'un élément trace, à être transféré du sol vers les différentes parties de la plante. Le BCF est le rapport de la concentration du métal de la plante par la concentration du métal dans le sol. Un BCF supérieur à 1, signifie que la plante a une capacité d'accumuler le métal du sol vers la plante (Padmavathiamma and Li 2007; Pyatt 2007).

Les valeurs de BCF obtenues dans cette étude sont toutes inférieures à 1 pour tous les éléments (Cd, Cu, Pb et Zn) et quel que soit la plante. On peut dire que ces plantes possèdent donc de faibles capacités pour l'absorption de métaux. Ceci peut être expliqué aussi par la faible mobilité de ces éléments dans le sol (Szolnoki et Farsang, 2003). Certains pays comme le Suède utilisent les valeurs de BCF pour évaluer le risque lié à la consommation des

légumes (Augustsson *et al.*, 2015). Parmi les polluants analysés dans cette étude, le BCF pour Pb était le plus faible au regard des autres éléments.

#### **1.4 L'association entre plantes potagères et espèces phytostabilisatrices (parcelle P4)**

L'association (plantes potagères – plantes phytostabilisatrices) avait pour but de vérifier si la présence des plantes phytostabilisatrices permettrait (1) de limiter l'absorption des éléments traces par les plantes potagères ou (2) de favoriser leur précipitation dans la zone racinaire, ou (3) de changer la spéciation réduisant ainsi la mobilité des éléments traces. Les teneurs moyennes en Cd, Pb et Zn dans notre sol d'études sont de 19,4, 1128,4 et 1050,7 mg/kg. Les légumes (tomates, haricots verts, radis, pomme de terre, épinards et poireaux) ont été cultivés en association avec les phytostabilisatrices (trèfle blanc, la luzerne et ray-grass) et les résultats ont été comparés à un témoin (potagères seules). Les résultats de la première expérimentation au champ ont montré que tous les polluants sont présents dans tous les tissus végétaux quel que soit le mode de culture. Compte-tenu de la réglementation de la commission de l'Union Européenne et de la directive chinoise fixant les teneurs maximales pour certains contaminants dans les productions alimentaires, les concentrations en Cd dans les parties comestibles étaient inférieures au seuil réglementaire à l'exception de la tomate sur parcelle potagères seules, le haricot vert sur la parcelle plantes potagères-plantes phytostabilisatrices, la pomme de terre et le poireau dans sa partie blanche sur la parcelle P4 (plantes potagères-plantes phytostabilisatrices). Nos résultats sont en accord avec ceux de Huo *et al.*, (2018), qui montraient qu'en association avec la morelle (*Solanum nigrum L.*), le maïs (*Zea maïs L.*) absorbait moins de Cd qu'en monoculture quel que soit l'organe analysé.

Dans le cas du Pb, seuls les légumes fruits (tomate et haricot) et le poireau dans la partie blanche sur parcelle association plantes potagères - plantes phytostabilisatrices contenaient des teneurs inférieures à la limite autorisée par la réglementation de l'UE. Pour le cas du zinc, toutes les parties comestibles des six plantes potagères cultivées contenaient des teneurs inférieures au seuil réglementaire à l'exception de l'épinard dans les feuilles. Le Zn semblerait préférentiellement accumulé dans les légumes racines et parmi les légumes feuilles, dans les laitues, contrairement aux résultats de Warming *et al.*, (2015). Nos résultats montrent que l'association plantes potagères - plantes phytostabilisatrices peut diminuer la quantité de polluants dans les parties comestibles par rapport à la monoculture sauf pour le Pb. Ce système de co-culture entre plantes potagères non accumulatrices et plantes

phytostabilisatrices (trèfle rampant : *Trifolium repens*), Ray-grass (*Lolium perenne*) et Luzerne (*Medicago sativa*)) apparaît comme une solution prometteuse pour sécuriser les cultures sur des sols urbains pollués par les éléments traces et éviter l'abandon du site de La Pierre-Fitte. Cependant il est à noter que Zhu *et al.*, (2016) ont montré que la co-culture du maïs avec les légumes ont augmenté davantage les concentrations en Cu, Zn et Cd dans le maïs (Liu *et al.*, 2012).

Concernant les facteurs de transferts (FT), les fruits de la tomate de la parcelle 4 (association plantes potagères – plantes phytostabilisatrices) sont tous inférieurs à 1. Pour le haricot, Ni seul a un TF >1. Ceci confirme que les légumes fruits accumulent moins de polluants par rapport aux légumes feuilles/tiges et légumes racines (Säumel, 2014 ; Roba *et al.*, 2016). On peut dire aussi que l'association entre plantes potagères et plantes phytostabilisatrices a réduit certaines teneurs en éléments traces dans les parties comestibles des légumes fruits. En ce qui est des légumes racines, le radis a un FT pour Pb supérieur à 1 (TF= 2,25), alors que pour la pomme de terre, tous les FTs sont supérieurs à 1 excepté pour Ni (TF= 0,65). Sur cette parcelle 4 (plantes potagères-plantes phytostabilisatrices), nous avons mesuré un FT en Pb largement supérieur à 1 (FT = 103,31) et un FT pour Zn égal à 10,02 dans les pommes de terre. D'après Roba *et al.*, (2016), le Zn semblerait préférentiellement accumulé dans les légumes racines. Ces données justifient que la consommation de la pomme de terre produite sur le sol de La Pierre-Fitte est déconseillée. Par ailleurs Jorhem *et al.*, (2000) ont montré que les légumes feuilles pouvaient accumuler davantage le Pb que la carotte, le radis, la tomate ou la pomme de terre (voir aussi Pruvot *et al.*, 2006). Toutes les valeurs de BCFs dans le traitement P4 (plantes potagères-plantes phytostabilisatrices) étaient inférieures à 1 et étaient à un niveau faible : 0,00 à 0,72, mais les BCFs pour Cd et Cu dans cette parcelle sont les plus élevés comparativement à la monoculture. Ceci peut s'expliquer par un transfert accru de Cd et Cu vers tous les légumes cultivés dans notre expérimentation au regard des autres éléments (Pb et Zn).

## **1.5 La co-culture entre plantes potagères et plantes phytoextractrices (P6)**

Le but était de savoir si la présence de plantes phytoextractrices dans la même parcelle que les plantes potagères permettrait de diminuer les métaux dans les parties comestibles. Dans la parcelle P6, les concentrations en Cd mesurées ont largement dépassé le seuil réglementaire de l'UE sur les parties comestibles de la tomate, le haricot et le radis par rapport à la



monoculture. Pour le Cu, même si cet élément n'est pas encore réglementé en termes de seuil dans l'UE, on voit que la tomate, le haricot, le radis et l'épinard ont accumulé plus de Cu dans la parcelle 6 par rapport à la monoculture. Les quantités de Pb accumulées dans le radis et l'épinard dans la parcelle 6 ont dépassé aussi le seuil réglementaire de l'UE. Par contre, les légumes fruits tels que la tomate et le haricot, ainsi que la pomme de terre et le poireau ont des concentrations de Pb en dessous du seuil réglementaire. Toutes les parties comestibles des plantes potagères ont de faibles teneurs en Zn par rapport aux directives de l'UE excepté pour les épinards dans les feuilles (Fig. 7). On peut dire que l'association plantes potagères / plantes extractrices a limité la fixation des éléments traces par les plantes potagères mais pas pour tous les éléments et tous les légumes. Il y a eu certes des diminutions pour certaines plantes et certains éléments mais les concentrations dépassent toujours les seuils maximums tolérés dans les parties comestibles de ces plantes.

Whiting *et al.*, (2001) ont montré que la teneur en Zn dans les feuilles de *Thlaspi arvense* était réduite de 2 à 3 fois lorsque *Thlaspi arvense* (espèce non accumulatrice) était co-cultivé avec *Thlaspi caerulescens* (une espèce hyperaccumulatrice). A l'inverse, Lingyao *et al.*, (2011) ont observé dans leur étude que la tomate absorbait plus d'éléments traces lorsqu'elle était associée à d'autres plantes telles que le maïs, le chou, le trèfle du Japon. Plus récemment, Yang *et al.*, (2017) ont étudié le rôle des associations végétales et de l'application de chitosane dans la phytoextraction de l'arsenic et des métaux par la fougère *Pteris vittata L.*, une espèce exceptionnellement résistante à l'arsenic et *Ricinus communis L* une plante qui présente un grand potentiel de phytoremédiation des sols contaminés par le Cd. Ainsi les concentrations en As et Pb de *P. vittata* étaient près de 10 fois et 2 fois plus élevées que celles de *R. cummunis* dans le système de co-culture. Selvan *et al.*, (2009) ont étudié le potentiel d'absorption de cadmium en combinant *Brassica napus* avec *Brassica para chinensis* et le maïs. Ils ont montré que lorsque *B. napus* est cultivé avec *Brassica para chinensis* ou du maïs, sa concentration en Cd et son accumulation dans la partie aérienne étaient nettement plus élevées ( $p < 0,05$ ).

En résumé, cette étude a révélé que les légumes testés en association avec les phytoextractrices (P6) ont accumulé le Pb et Cd au dessus du seuil réglementaire, sauf pour la pomme de terre dans le cas du Cd. Il y a eu certes des diminutions pour certaines plantes et pour certains éléments mais les concentrations dépassent toujours les seuils qu'on devrait avoir dans les parties consommables de ces plantes.

Dans notre étude, le pH du sol (7,41) ne favorise pas le mouvement des métaux lourds et métalloïdes dans le système sol-plante. Le pH est un paramètre important qui affecte la

disponibilité des métaux dans les sols (Cao *et al.*, 2008). On peut supposer que les caractéristiques morphologiques des racines de plantes phytorémediantes pourraient aussi constituer un facteur important pour l'accumulation excessive de métaux dans les parties comestibles.

## 1.6 Plantes phytostabilisatrices seules P3

Pour le cas des espèces phytostabilisatrices, nos résultats montrent que le raygrass (*Lolium perenne*) présente la plus forte biomasse comparée aux deux autres plantes (*Medicago sativa* et *Trifolium repens*). Cette étude a révélé que parmi les éléments analysés dans les tissus de *Lolium perenne*, Zn était l'élément dominant dans les racines et les parties aériennes et Cd était le plus faiblement présent, avec un facteur de bioconcentration de 0,27 et 0,28. De plus, pour les tissus de *Trifolium repens*, Zn était aussi l'élément dominant dans les racines et les parties aériennes et Cd avec un facteur de bioconcentration de 0,12 et 0,10 le moins accumulé. Le Cd est très préoccupant en raison de sa toxicité pour la santé humaine et d'autres organismes, tandis que le Zn est un élément essentiel pour les plantes et les humains. Concernant la luzerne (*Medicago sativa*) on a mesuré les concentrations les plus faibles tant aux niveaux des racines que des parties aériennes. Dans la littérature, Lambrechts *et al.*, (2013) ont constaté que *Lolium perenne* accumulait 3 fois plus de Cd et de Zn dans les racines que *Trifolium repens*. Lopareva-Pohu *et al.*, (2011) ont rapporté que *Lolium perenne* accumule plus de Cd, Pb et Zn dans les racines par rapport à la partie aérienne. Il semble que le ray-grass puisse accumuler du Cd et du Zn principalement dans les racines et limiter leur translocation vers les parties aériennes (Lambrechts *et al.*, 2013). Selon Lanier *et al.*, (2015), des concentrations plus élevées de Cd et Pb ont été trouvées dans les racines (86-106 et 926-1165 mg/kg) par rapport aux parties aériennes (3,8 et 40 mg/kg) de *Trifolium repens* cultivées dans un sol enrichi de ces éléments. D'après Baker (1981), ces résultats suggèrent une limite d'accumulation, correspondant au comportement d'une espèce ayant tendance à exclure ces éléments. Bidar *et al.*, (2006, 2008a, 2008b) ont montré également que les concentrations de Cd, Pb et Zn dans les racines étaient significativement plus élevées chez *Lolium perenne* et *Trifolium repens* par rapport à la partie aérienne. En bon accord, selon Grant *et al.*, (1997), Cd et Pb absorbés par ces plantes sont principalement accumulés dans les racines et leur translocation vers les parties aériennes sont limitées. Nos résultats révèlent que les espèces phytostabilisatrices ont accumulé préférentiellement le Cd Cu, Pb et Zn dans les parties racinaires. Une plante est considérée comme phytostabilisatrice, si une espèce végétale

accumule les concentrations dans les tissus racinaires ou favorise leur précipitation dans la zone racinaire, réduisant ainsi leur mobilité et leur biodisponibilité (Wong, 2003 ; Yoon *et al.*, 2006). *Trifolium repens* et *Lolium perenne* apparaissent donc des plantes candidates idéales pour la phytostabilisation en raison de leurs tolérances. Dans leur étude, Bidar *et al.*, (2006, 2008a, 2008b) ont également constaté que les facteurs de bioconcentration (BCF) étaient supérieurs à 1 à l'exception du Pb, ce qui n'est pas cohérent avec nos résultats. Les facteurs de transfert (FT) les plus élevés ont été enregistrés chez *Medicago sativa* (avec un TF =  $1,48 \pm 1,58$  de Cd et  $1,30 \pm 0,67$  de Ni) et chez *Lolium perenne* (TF =  $1,00 \pm 0,12$ ).

## 1.7 Plantes phytoextractrices seules (P5)

Plusieurs auteurs ont montré que *Brassica juncea* a une plus grande capacité d'accumulation et de translocation de Cd, de Cu, de Cr, de Ni, de Pb et de Zn, ce qui suggère que cette plante peut être utilisée pour réhabiliter certains sites contaminés (Ent *et al.*, 2013 ; Armas *et al.*, 2015 ; Angelova *et al.*, 2008). Ainsi dans des sols auxquels a été ajouté du cadmium sous forme de solution de nitrate de Cd (II) pour obtenir les concentrations finales de 5 et 35 mg/kg de Cd de sol, l'absorption de Cd a atteint 183 mg / kg MS dans les feuilles et jusqu'à 255 mg / kg MS dans les racines de *Brassica juncea*, (Armas *et al.*, 2015). Selon ce même auteur, *Brassica juncea* a accumulé une plus grande proportion de Cd dans les racines par rapport aux parties aériennes en culture hydroponique. Jiang *et al.*, (2004) ont mesuré une concentration de Cd atteignant 300 mg / kg MS dans les racines et 160 mg / kg MS dans la partie aérienne. Foucault *et al.*, (2013) ont étudié la moutarde blanche (*Sinapis alba*) dans deux sols différents (S et S2). Ils ont rapporté que le Cu, le Zn et le Cd étaient principalement présents dans les parties aériennes jusqu'à 69 mg / kg pour le Cu, 260 mg / kg pour le Zn et 11,1 mg/kg pour le Cd, et les concentrations de Pb étaient plus élevées dans les parties aériennes jusqu'à 1131 mg / kg dans le sol S2. Dans les parties racinaires, ils ont obtenu : 363mg/kg de Pb, 3,5 mg/kg de Cu, 4,5 mg/kg de Zn et 1,1 mg/kg de Cd. Dans notre étude, les concentrations dans les feuilles et les racines diffèrent selon l'élément et la plante. Le Pb est par exemple était beaucoup plus présent dans les racines des espèces phytoextractrices que dans les parties aériennes quelle que soit l'espèce. Ce résultat est cohérent avec ceux obtenus par Dorine (thèse 2018) sur l'absorption de Pb dans la moutarde brune (*B. juncea*) Par contre l'Alysse (*Aurinia saxatilis*) a absorbé plus de Pb dans les parties aériennes par rapport aux deux autres espèces. La concentration en As a aussi été plus élevée dans les parties aériennes de cette dernière.

Dans notre étude, parmi les éléments analysés dans les tissus de la moutarde blanche (*Sinapis alba*), Zn était l'élément le plus absorbé dans les racines et les parties aériennes et Cd le plus faiblement présent dans les deux organes (avec un FBC de 0,14 et 0,09). On peut dire que la moutarde blanche a été une candidate idéale pour la phytoextraction de Zn dans le site de La Pierre-fitte. La moutarde blanche a aussi préférentiellement accumulé le Cu dans ses racines plutôt que dans ses parties aériennes. Palutoglu *et al.*, (2017) ont trouvé des concentrations de Cd plus élevées dans les racines et les parties aériennes de *Alyssum saxatile* avec un facteur de translocation inférieur à 1, cela indique que cette plante n'est pas prometteuse pour la bioaccumulation de Cd.

Dans cette partie, le Cd ne présente statistiquement pas de différence significative dans les deux tissus, mais on constate que *Brassica juncea* et *Sinapis alba* ont accumulé plus dans les parties aériennes comparativement aux racines. En termes de facteur de transfert (FT), quel que soit l'espèce, il y a une faible accumulation de Pb ( $TF \ll 1$ ). Par contre les TFs de As, Cd, Cu, Ni et Zn sont supérieurs ou égales à 1.

## **2 Influence de l'EDDS sur la phytoextraction des éléments traces de *Sinapis alba* en monoculture ou en co-culture avec *Brassica oleracea***

La 2<sup>ème</sup> année de l'expérimentation avait le même objectif que celle de la 1<sup>ère</sup> année, à savoir associer des plantes potagères à des plantes phytoextractrices. La moutarde blanche (*Sinapis alba*) qui était parmi les plantes extractrices en première année d'expérimentation, a été retenue pour la deuxième année pour être étudiée avec le chou commun (*Brassica oleracea*), un légume feuilles. Elle est semée comme engrais vert et ses graines peuvent être utilisés pour l'alimentation humaine. Dans cette partie de notre travail, nous avons étudié les effets de l'application du chélateur EDDS (3mg/kg) en pots sur l'absorption des éléments par les deux espèces en co-culture comparativement à la monoculture. Ce chélateur aide à solubiliser les éléments traces qui sont plus disponibles dans le sol et donc potentiellement plus facilement absorbés par la racine du sol et après translocation *via* le système vasculaire, accumulés dans les parties aériennes (Salt *et al.*, 1998).

### **2.1 Effets cultures de *Sinapis alba* et *Brassica oleracea***

Dans cette étude, il ressort que l'espèce *B. oleracea* présente une plus forte biomasse tant racinaire qu'aérienne en monoculture qu'en co-culture. Chaque pot de cette expérimentation, contenait cinq graines de *Sinapis alba* et cinq graines de *Brassica oleracea* qui ont été semées dans les deux traitements. Cette faible biomasse en co-culture peut être dûe au nombre de plantes cultivées par pot. Les travaux de Xia *et al.*, (2018) vont dans le sens opposé de nos résultats, selon lequel, *Conyza canadensis* en association avec *Cerastium glomeratum*, *Cardamine hirsuta* en association avec *C. glomeratum*, et la culture intercalaire de trois espèces ont favorisé la croissance de ces espèces végétales en augmentant la biomasse par rapport à celles des monocultures respectives. Une autre étude réalisée par Wei *et al.*, (2011) va aussi dans le sens contraire de nos résultats, qui montre que les biomasses de *Sedum alfredii* H (plante hyperaccumulatrice) et le maïs (*Zea Mays*, cv. Huidan-4) étaient plus importants dans le système co-culture que dans le traitement monoculture.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Wang *et al.* (2015) qui ont utilisé une plante hyperaccumulatrice, la morelle (*Solanum Nigrum* L.) et l'oignon (plante faiblement accumulatrice) en monoculture et en co-culture. Ils ont mis en évidence que la biomasse de l'oignon n'a pas été réduite de manière significative dans les parcelles en co-culture par rapport à celles en monoculture, indiquant que la co-culture n'a pas affecté sa biomasse.

Dans notre étude, *Sinapis alba*, n'a montré aucune différence significative de biomasse entre monoculture et co-culture quel que soit l'organe ou le mode de culture, ce qui indique aussi que la production de biomasse de *S. alba*, n'était pas affectée par la co-culture avec *B.oleracea*.

En termes de concentrations, *B. oleracea* accumule préférentiellement plus d'éléments dans ses racines que dans sa partie aérienne. En comparaison avec la monoculture et la co-culture, les concentrations de Cu, Pb et Zn en monoculture sont plus élevées qu'en co-culture quels que soient le traitement.

En ce qui concerne le facteur de transfert, selon Antonkiewicz *et al.*, (2016), le TF est utilisé pour évaluer les capacités de phytoextraction des plantes, plus particulièrement leurs capacités à transporter les métaux des racines vers la partie aérienne. Les valeurs de facteurs de transfert (FT) de *S. alba* étaient généralement supérieures à 1 sauf pour le Pb quel que soit le mode de culture. Ces valeurs montrent que *S. alba* a une capacité à extraire et transporter Cu, As, Cd, Cr et Zn vers la partie aérienne. Nos résultats indiquent aussi que les BCFs de ces éléments sont inférieures à 1 ( $BCF < 1$ ) pour les deux cultures excepté pour le Cd en co-culture chez *S. alba* par rapport à la monoculture quel que soit le traitement (sans ou avec EDDS).

En quantité totale d'éléments traces extraite par *B. oleracea*, les teneurs en Cu, Pb et Zn (quel que soit le tissu), le Cd et Cr (partie racinaire) étaient significativement plus élevées ( $p < 0,05$ ) en monoculture qu'en co-culture, cela est à rapprocher du fait que les choux ont moins poussé en co-culture. Concernant l'espèce *Sinapis alba*, les teneurs totales en Cu, Pb, Cr et Zn dans les racines étaient réduites lorsque les deux espèces étaient associées, mais pas les teneurs en As et Cd. Cela indique que l'espèce *S. alba* exclue ces éléments ou limite et maintient des niveaux faibles de ces polluants.

## 2.2 Effets EDDS de *Sinapis alba* et *Brassica oleracea*

Un certain nombre de complexants synthétiques comme le DTPA (Diethylene triamino pentaacetic acid), l'EDTA (Ethylene diaminetetraacetic acid), de complexants naturels comme l'EDDS (S,S-ethylene diamine disuccinic acid), le NTA (Nitrilotriacetic acid) et des acides organiques comme le citrate ont été utilisés pour réduire la durée de phytoextraction des éléments traces et améliorer leur absorption par les plantes.

Dans notre étude, l'application de l'EDDS n'a pas eu un effet significatif sur le système co-culture par rapport à la monoculture.

Bien que les statistiques ne montrent pas assez de différences significatives entre les traitements de *S. alba*, nous constatons cependant qu'il y a un effet sur l'application d'EDDS sur les teneurs en Cu dans les parties aériennes (tiges, feuilles, siliques), en Pb dans les tiges. Par contre, nous avons montré que lorsque l'EDDS est appliqué, les teneurs en Pb, As, Cr et Zn étaient augmentées mais uniquement dans les parties aériennes de *B. oleracea*. Dans la littérature, Meers *et al.*, (2007) ont montré que l'EDDS augmentait l'accumulation des éléments traces dans le saule, espèce ligneuse, en particulier Cu, Zn, Pb et Ni dans les tiges et feuilles, mais ne présentait pas un grand potentiel d'absorption de Cd et Cr. Cela confirme la capacité de l'EDDS à augmenter la biodisponibilité de certains éléments traces. Abbas et Abdelhafez, (2013) ont mené une expérience en utilisant quatre traitements d'EDTA (0, 1, 2,5 et 5mmol/kg), et ont constaté une accumulation relativement plus élevée en As dans la partie racinaire de maïs avec les traitements de 0 et 1mmol/kg par rapport à la partie aérienne. Par contre, l'absorption d'As par les racines et parties aériennes a été presque identique après l'ajout de 2,5 et 5mmol/kg d'EDTA. Rahaman *et al.*, (2007) ont suggéré que l'augmentation d'As a provoqué une réduction de la croissance et un faible rendement du riz, ce qui résulte d'une diminution de la teneur en chlorophylle dans les feuilles induites par l'As. En outre, malgré la forte toxicité du sol de La Pierre-Fitte, les deux espèces (*Sinapis alba* et *Brassica*

*oleracea*) n'ont pas présenté des perturbations physiologiques. Plusieurs auteurs ont montré que le chélateur EDDS est biodégradable (Lan *et al.*, 2013 ; Luo *et al.*, 2005 ; Meers *et al.*, 2005). L'EDDS pourrait ainsi se dégrader complètement 36 jours après son application (Wang *et al.*, 2012).

Meer *et al.*, (2005) ont montré que l'EDDS était plus efficace que l'EDTA pour l'absorption de Cu par l'espèce *Helianthus annuus* L, et Karczewska *et al.*, (2016) ont décrit une augmentation significative de l'absorption de Cu en présence d'EDDS chez le maïs et la moutarde indienne (*Brassica juncea*) par rapport à l'EDTA et inversement pour le Pb en présence d'EDTA par rapport à l'EDDS. D'autres auteurs ont comparé l'effet de l'application de l'EDDS et l'EDTA sur l'absorption du Cu chez *B. napus* et ont observé que l'EDDS était le plus efficace (Zeremski-Skoric *et al.*, (2010). Dans cette étude, l'application d'EDDS a aussi favorisé l'accumulation de Cr dans les tiges et feuilles de *S. alba* uniquement en monoculture. D'après Lee et Sung, (2014), l'EDDS peut augmenter l'absorption des éléments traces, mais que son action se limite à certaines espèces de plantes et de métaux. Globalement, la partie aérienne de *S. alba* accumule plus de Cu, Pb, As, Cd, Cr et Zn que les racines, ce qui confirme la capacité d'extraction et de transfert de cette espèce.

Dans notre étude, l'application de l'EDDS à 3mmol/kg n'a malheureusement pas entraîné une augmentation significative de la concentration de tous les éléments, seulement celle du Cu dans les feuilles de chou quel que soit le mode de culture et celle de Cr mais uniquement dans les racines et en co-culture.

Concernant le facteur de translocation (FT), il a été révélé que la co-culture avec le traitement d'EDDS, a été supérieur à 1 ( $FT > 1$ ) chez le *B. oleracea* mais uniquement en Cu, As et Zn par rapport à la monoculture. Par contre chez *S. alba*, les valeurs de TF sont très supérieures à 1 quel que soit le mode de culture ou traitement sauf pour le Pb.

On peut suggérer que *S. alba* est une espèce utile pour le traitement de la contamination des sols par les métaux tant en condition contrôlée que dans le champ. La plupart des études réalisées sur l'amélioration de la phytoextraction par l'application de l'EDDS, ont utilisé des doses plus élevées par rapport à notre expérimentation (comme par exemple celles de : Attinti *et al.*, 2017 ; Yan-ping Zhao *et al.*, 2020 ; Ling *et al.*, 2021).

## Conclusion générale et Perspectives

La phytoremédiation est une méthode de dépollution respectueuse de l'environnement pour la réhabilitation des sites pollués par l'utilisation de végétaux pour extraire ou immobiliser les polluants. La co-culture des plantes commerciales avec des plantes hyperaccumulatrices est une approche de remédiation et économiquement et écologiquement rationnelle pour maintenir la production agricole pendant le processus de phytoremédiation (Liu *et al.*, 2015). Par conséquent, des méthodes fiables sont nécessaires pour réduire l'accumulation des éléments traces et protéger les organismes vivants (Konate *et al.*, 2017). Les premières expériences de notre étude ont porté sur la monoculture et la co-culture entre plantes maraîchères (la tomate, le haricot, le radis, la pomme de terre, le poireau et l'épinard) et plantes phytoextractrices /phytostabilisatrices (*Brassica juncea*, *Sinapis alba*, *Aurina saxatile*/*Lolium perenne*, *Trifolium repens*, *Medicago sativa*) en champ. Par la suite, nous avons testé par des expériences *ex situ* en présence et en absence de l'EDDS en conditions contrôlées (pots) avec l'introduction de *Sinapis alba* et de *Brassica oleracea* en monoculture ou en co-culture. Le premier objectif de cette thèse a été de tester qu'une co-culture entre plantes potagères et plantes remédiantes pouvaient réduire les polluants dans les parties comestibles des plantes maraîchères au niveau des sols pollués par les éléments traces, tout en permettant simultanément la production potagère et la dépollution de la zone contaminée. Nos résultats de la première expérimentation *in situ* montrent que les biomasses sèches des plantes cultivées en monoculture ont été supérieures à celles des plantes cultivées en association quelle que soit l'espèce, sauf pour la tomate qui produisait moins de biomasse.

L'analyse de la teneur en éléments traces dans les plantes potagères testées au champ montre qu'il n'est pas possible de produire et de dépolluer simultanément. Pour la plupart des légumes analysés sur la parcelle monoculture (plantes potagères), l'accumulation des éléments traces était inférieure à celle des légumes de co-culture. La co-culture des plantes potagères – phytoremédiantes n'a pas diminué significativement les concentrations de Cd, Pb et Zn dans les parties consommables pour permettre une consommation selon les normes fixées par l'Union Européenne (n° 1881/2006). Les teneurs en Pb dans les parties consommables de tomate, du haricot et de pomme de terre sont inférieures à celles de la norme CEE (n° 1881/2006) lorsqu'elles sont combinées avec les plantes stabilisatrices. Sur la même parcelle (plantes potagères – plantes phytostabilisatrices), les teneurs en Cd dans les parties consommables de tomate, du radis, de pomme de terre, d'épinard et du poireau (partie verte) sont inférieures à celles de la norme CEE (n° 1881/2006). Pour Pb sur la parcelle



(plantes potagères – plantes stabilisatrices), seuls la tomate et le poireau (partie verte) sont au dessous de la limite fixée par la CEE. En ce qui concerne le zinc sur les deux parcelles d'associations (plantes potagères – plantes stabilisatrices, et plantes potagères – plantes extractrices), tous les légumes analysés sont en-dessous du seuil réglementaire sauf pour l'épinard dans les feuilles.

A l'opposé de l'association plantes potagères - plantes extractrices, tous les légumes ont dépassé le seuil réglementaire sauf la pomme de terre, l'épinard et le poireau (partie blanche) pour Cd et la tomate pour Pb. La combinaison des deux types de plantes (plantes potagères – plantes extractrices P6) amène à une augmentation de la concentration en Cd dans les légumes fruits et radis. L'absorption de As et Ni par la tomate, le haricot, la pomme de terre, le radis, l'épinard et le poireau a largement dépassé les normes chinoises (GB2762-2012, China) quel que soit le mode de culture, ce qui indique que ces légumes sont inconsommables.

Dans le cas des facteurs de bioconcentration (BCF), toutes les valeurs sont très inférieures à 1, ce qui montre que la biodisponibilité des éléments traces dans le sol de La Pierre Fitte est trop faible. En se basant sur les facteurs de transfert (FT) il apparaît que Cu, Ni, Pb et Zn sont préférentiellement transférés vers la partie végétative de la tomate sur la parcelle P6 (association plantes potagères – plantes extractrices). Toutes les valeurs de facteur de transfert de la pomme de terre sont largement supérieures à 1 quel que soit le mode de culture. Ceci peut expliquer que la tomate et la pomme de terre peuvent être considérées comme plantes modèles de phytoextraction. Ces résultats nécessitent d'être testés sur d'autres variétés afin de choisir les légumes à mettre en place sur le site.

Nos résultats montrent que les plantes remédiantes seules sont efficaces pour la remédiation de certains éléments traces malgré ici, une faible biodisponibilité des éléments dans le sol en raison de son pH légèrement alcalin. Quant aux plantes potagères, elles sont fortement contaminées en culture seule mais une fois associées aux plantes phytoremédiantes on peut avoir une diminution légère de certaines concentrations. Pour conclure, malgré la souffrance des plantes remédiantes induite par la toxicité des éléments traces, les associations étudiées entre cultures potagères et phytoremédiantes n'induisent pas de diminution de la concentration en éléments traces dans les organes consommés. Ceci répond montre que la valorisation de la zone polluée de La Pierre-Fitte par du maraîchage n'est pas envisageable. Une application d'EDDS a toutefois été expérimentée en pots avec l'introduction de *Sinapis alba* en monoculture ou en co-culture avec *Brassica oleracea* dans le but d'améliorer la mobilité des éléments traces vers les parties aériennes. La biomasse des deux espèces a été

mesurée pour évaluer l'efficacité de la phytoextraction aux éléments traces et le système de co-culture en présence ou en absence de l'EDDS. En général, nos résultats montrent qu'il y a eu un effet de diminution de polluant sur le système co-culture de *Brassica oleracea* par rapport à la monoculture que ce soit en présence ou non d'EDDS. On peut conclure que l'association par *Brassica oleracea* dans des sols contaminés semble prometteuse.

Concernant l'espèce *Sinapis alba* qui est considérée comme accumulatrice, les résultats indiquent qu'il n'y a pas eu d'effet ni de la culture ni de l'EDDS sur sa biomasse et l'absorption des polluants. En termes d'efficacité de phytoextraction, le facteur de transfert de *B. oleracea* est supérieur à 1 pour Cu, As et Zn en co-culture en présence d'EDDS. A l'opposé, *S. alba* a enregistré un facteur de transfert supérieur à 1 pour Cu, As, Cd et Zn quel que soit le système de culture ou le traitement. L'application de l'EDDS et le système co-culture n'ont pas influencé la diversité des communautés bactériennes de la rhizosphère. Cela confirme que l'EDDS est un chélatant biodégradable pour l'environnement.

Cette technique (phytoremédiation) dite écologique est prometteuse mais nécessite d'être améliorée pour mobiliser les éléments traces dans le site de La Pierre-Fitte. En perspective, par exemple l'introduction d'une légumineuse en association avec les plantes rémédiantes pourrait améliorer le rendement de la biomasse des plantes rémédiantes mais aussi améliorer la phytoextraction des polluants par rapport à la monoculture. Afin de valider nos résultats, il serait préférable de tester aussi d'autres espèces et d'autres variétés.

Par ailleurs, la gestion de restauration écologique sur des zones polluées doit se combiner avec l'application d'amendements du sol (comme le compost, le fumier), en particulier ceux qui peuvent acidifier le pH du sol et améliorer la mobilité des éléments traces du sol vers les parties récoltables. L'introduction des vers de terre dans le sol, comme par exemple *Pontoscolex corethurus* pourrait aussi conduire à une augmentation de la biomasse des plantes ainsi qu'à une augmentation de l'absorption des éléments traces. Pour ce type d'expériences, notons que l'utilisation d'une ICP-MS, plus sensible que l'ICP-OES serait très intéressante pour bien détecter et quantifier les éléments traces.

## Références bibliographiques

- Abdu N, Agbenin JO, Buerkert A. 2011. Phytoavailability, human risk assessment and transfer characteristics of cadmium and zinc contamination from urban gardens in Kano, Nigeria. *J Sci Food Agric* 91, 2722–2730.
- Abdulla M, Chmielnicka J. 1989. New aspects on the distribution and metabolism of essential trace elements after dietary exposure to toxic metals. *Biol Trace Elem Res* 23, 25–53.
- Abedin M. J, Cotter-Howells J and Meharg A A. 2002. Arsenic uptake and accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) irrigated with contaminated water. *Plant and Soil*, vol. 240, no. 2, pp. 311–319.
- Adefemi O. S and Awokunmi E E. 2013. Uptake of Heavy Metals by Tomato (*Lycopersicum esculentus*) Grown on Soil Collected from Dumpsites in Ekiti State, South West, Nigeria. *International Journal of Chemistry*, 5(3), 70.
- ADEM –Pollutec. 2007. Guide méthodologique d'échantillonnage de plantes potagères cultivées à proximité d'une installation industrielle actuelle ou ancienne en vue d'en déterminer la qualité d'un point de vue sanitaire.
- ADEME. 2012. Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués État de l'art Coordonné par Valérie Bert Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués.
- Adesodun J, Atayese M. O Agbaje T A, Osadiaye B A, Mafe O F and Soretire A A. 2010. Phytoremediation potentials of sunflowers (*Tithonia diversifolia* and *Helianthus annuus*) for metals in soils contaminated with zinc and lead nitrates. *Water, Air, and Soil Pollution*, 207(1–4), 195–201.
- Adriano DC. 1986. Trace elements in terrestrial environment; Springer Verlage, New York, 219-261.
- Agnello A., D. Huguenot, E. Van Hullebusch, G. Esposito. 2014. Enhanced phytoremediation: a review of low molecular weight organic acids and surfactants used as amendments. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 44, pp. 2531-2576.
- Ahmad I, Akhtar M J, Zahir Z A and Jamil A. 2012. Effect of cadmium on seed germination and seedling growth of four wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Pakistan Journal of Botany*, vol. 44, no. 5, pp. 1569–1574.
- Alena Lopareva-Pohu, Anthony Verdin, Guillaume Garçon, Anissa Lounès-Hadj Sahraoui *et al.* 2011. Influence of fly ash aided phytostabilisation of Pb, Cd and Zn highly contaminated soils on *Lolium perenne* and *Trifolium repens* metal transfer and physiological stress. *Environmental pollution*. 159, 1721-1729.

- Ales Vanek, Michael Komárek, Vladislav Chrastny, David Becka, Martin Mihaljevic, Ondrej Sebek, Gabriela Panusková, Zuzana Schusterova. 2010. Thallium uptake by white mustard (*Sinapis alba* L.) grown on moderately contaminated soils—Agro-environmental implications. *Journal of Hazardous Materials* 182: 303-308.
- Alexander P D, Alloway B J and Dourado A M. 2006. Genotypic variations in the accumulation of Cd, Cu, Pb and Zn exhibited by six commonly grown vegetables. *Environmental Pollution*, 144(3), 736–745.
- Ali H, Khan E and Sajad M A. 2013. Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869–881.
- Alloway B J, & Ayres DC. 1997. *Chemical principles of environmental pollution* (2nd ed.). London: Blackie
- Alloway B J. 1995. Soil processes and the behaviour of heavy metals. In Alloway, B. J. (Ed.). *Heavy metals in soils*. Chapman & London, (1995) p11-35.
- An, L., Pan, Y., Wang, Z., Zhu, C., 2011. Heavy metal absorption status of five plant species in monoculture and intercropping. *Plant Soil* 345, 237–245.
- Anderson CWN, Brooks RR, Stewart RB, Simcock R. 1999. Gold uptake by plants. *Gold Bull.* 32, 48–52.
- Anne Tremel-Schaub et Isabelle Feix. 2005. *Contamination des sols : Transferts des sols vers les plantes*. EDP Sciences, 17, avenue du Hoggar, PA de Courtaboeuf, 91944 Les Ulis Cedex A et ADEME Éditions, 2, Square Lafayette, 49004 Angers Cedex, 422 p
- Angelova V, Ivanova R, Pevicharova G & Ivanov K. 2010. Effect of organic amendments on heavy metals uptake by potato plants. *World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World*, (August), 84–87.
- Antoniadis V, Levizou E, Shaheen S M, Sik Ok Y, Sebastian A, Baume C, Prasad N V, Wenzel W W, Rinklebe J. 2017. Trace elements in the soil-plant interface: Phytoavailability, translocation, and phytoremediation-A review. *Earth Sci Rev.* 171, 621-645.
- Anwarzeb Khan, Sardar Khan, Mehboob Alam, Muhammad Amjad Khan, Muhammad Aamir, Zahir Qamar, Zahir Ur Rehman, Sajida Perveen. 2015. Toxic metal interactions affect the bioaccumulation and dietary intake of macro- and micro-nutrients. *Chemosphere* 146: 121-128.

- Aranguren M M S. 2008. Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers. Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique, thèse doctorat en Sciences de la Terre et Environnement. Université de toulouse. 10-11 et 20-21p
- Arienzo M, Adamo P & Cozzolino V. 2004. The potential of *Lolium perenne* for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site. *Science of the Total Environment*, 319(1–3), 13–25.
- Arnon Di, Stout Pr. 1939. The essentiality of certain elements in minute quantity for plant with special reference to copper. *Plant Physiol.* (April 1939). 14(2):371-375.
- Arora M, Kiran B, Rani S, Rani A, Kaur B & Mittal N. 2008. Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources. *Food Chemistry*, 111(4), 811–815.
- Aslam S, Sharif F & Khan A U. 2015. Effect of Lead and Cadmium on Growth of *Medicago Sativa L.* and Their Transfer To Food Chain. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 25(2), 472–477.
- ATSDR. 2009. Case Studies in Environmental Medicine –Arsenic Toxicity. Resource Document. US Department of Health and Human. Environmental Medicine and Educational Services Branch.
- Atul Bhargava, Francisco F.Carmona, Meenakshi Bhargava, Shilpi Srivastav. 2012. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Journal of Environmental Management*, 103-120.
- Aubry C, Dabat MH, Mawois M. 2010. Fonction alimentaire de l’agriculture urbaine au Nord et au Sud : permanence et renouvellement des questions de recherche, séminaire ISDA 2010, 28-30 juin 2010, Montpellier.
- Audrey Muratet, Nathalie Machon, Frédéric Jiquet, Jacques Moret et Emmanuelle Porcher. 2007. The Role of Urban Structures in the Distribution of Wasteland Flora in the Greater Paris Area, France. *Ecosystems*, 661-671.
- Anna L.M. Augustsson, Terese E. Uddh-Söderberg, Johan Hogmalm K., Monika Filipsson E.M. 2015. Metal uptake by homegrown vegetables – The relative importance in human health risk assessments at contaminated sites. *Environmental Research* 138, 181-190.
- Avidano, L., Gamalero, E., Cossa, G.P., Carraro, E., 2005. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicators. *Appl. Soil Ecol.* 30, 21–33.

- Azizur Rahman M, Hasegawa H, Mahfuzur Rahman M, Nazrul Islam M, Majid Miah M.A, Tasmien A. 2007. Effect of arsenic on photosynthesis, growth and yield of five widely cultivated rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Bangladesh. *Chemosphere*, 1072-1079.
- Baath E. 1992. Measurement of heavy metal tolerance of soil bacteria using thymidine incorporation into bacteria extracted after homogenization-centrifugation. *J Soil Biology and Biochemistry*. 24: 1167-1172.
- Baize D. 1997. Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). INRA Editions, Paris, p 410.
- Baize, D. et Girard, M.-C. (2009) Référentiel pédologique 2008. Editions Quae.
- Baker AJM. 1981. Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *J Plant Nutr* 3:643–654
- Baker A, Brooks R. 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1 (2), 81–126.
- Baker AJM and Walker P.L. 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In J. Shaw (Ed.). *Heavy Metal Tolerance in plants: Evolutionary aspects*, CRC Press. Boca Raton. Florida, p155-178.
- Balabane M, Oort F. Van Ge B. 2000. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution* 109: 231-238.
- Banata KM, Howarib FM, Al-Hamada AA. 2005. Heavy metals in urban soils of central Jordan: Should we worry about their environmental risks? *Environmental Research*, 97, 258 -273.
- Barber SA, Silberbush M. 1984. Chapter 4: Plante morphology and nutrient uptake. In : *Roots, nutrient, water influx and plant growth*. SSA, CSSA et ASA, Madison, Etats-Unis, 65-87.
- Barcelo J, Cabot C and Poschemleder Ch. 1986. Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv Contenderi. II. Effects of Cd on endogenous abscisic acid levels. *J Plant Physiol*. 125: 27-34.
- Bargagli R. 1998. Trace elements in terrestrial plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. Springer. 324 p.
- Barrachina AC, Carbonell F B, and Beneyto JM. 1995. Arsenic uptake, distribution, and accumulation in tomato plants: effect of arsenite on plant growth and yield. *J Plant Nutrition*, vol. 18, no. 6, pp. 1237–1250.
- Beř D, Komárek M, Chrástn V, Mihaljeviř M, Panuř G, Schusterová Z. 2010. Thallium

- uptake by white mustard (*Sinapis alba* L.) grown on moderately contaminated soils — Agro-environmental implications. *Hazardous Materials* 182: 303–308.
- Becerril JM, Amezaga I, Albizu I, Onaindia, Garbisu M C. 2004. Chelate-enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 55–70.
- Benoit PEREIRA et Philippe SONNET. 2007. La contamination diffuse des sols par les éléments traces métalliques en Région Wallonne. Dossier scientifique réalisé dans le cadre de l'élaboration du rapport analytique 2006/2007 sur l'état de l'environnement en Wallonie.
- Bert V, Deram A. 1999. Guide des phytotechnologies : utilisation des plantes dans la dépollution et la réhabilitation des sites contaminés par les métaux lourds, France, Environnement et Développement alternatif.
- Bert V, Hadj-Sahraoui A, Leyval C, Fontaine J, Ouvrard S. 2012. Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués - État de l'art et guide de mise en oeuvre, Bert, V. (Ed), EDPSciences. ADEME.
- Berthelin J, Leyval C. 2000. Contamination des milieux par les éléments en traces. Les conséquences sur les sols les eaux superficielles. *Compte-rendus de l'Académie d'Agriculture de France* 86: 25-37.
- Betencourt E, Duputel M, Colomb B, Desclaux D, Hinsinger P. Intercropping promotes the ability of durum wheat and chickpea to increase rhizosphere phosphorus availability in a low P soil. *Soil Biol. Biochem.*, 46 (2012), pp. 181-190
- Bidar G, Garçon G, Pruvot C, Dewaele D, Cazier F, Douay F & Shirali P. 2007. Behavior of *Trifolium repens* and *Lolium perenne* growing in a heavy metal contaminated field: Plant metal concentration and phytotoxicity. *Environmental Pollution*, 147(3), 546–553.
- Bidar G, Verdin A, Garçon G, Pruvot C, Laruelle F, Grandmougin-Ferjani A. 2008. Changes in fatty acid composition and content of two plants (*Lolium perenne* and *Trifolium repens*) grown during 6 and 18 months in a metal (Pb, Cd, Zn) contaminated field. *Water, Air, and Soil Pollution*, 192(1–4), 281–291.
- Bidar, Géraldine, Pruvot C, Garçon G, Verdin A, Shirali P & Douay F. 2009. Seasonal and annual variations of metal uptake, bioaccumulation, and toxicity in *Trifolium repens* and *Lolium perenne* growing in a heavy metal-contaminated field. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(1), 42–53.
- Bidar G, Waterlot C, Sahmer K, Pelfrêne A, Pourrut B, Schwartz C, Douay F. 2017. PhytExPPo : Phytodisponibilité des ETM pour les plantes potagères et extrapolations

- dans la quantification de l'exposition des consommateurs – ADEME.Rapport. 176 pages.
- Bian F, Zhong Z, Zhang X, Yang C. 2017. Phytoremediation potential of moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) intercropped with *Sedum plumbizincicola* in metal-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research* 24: 27244–27253.
- Blaud A, Diouf F, Herrmann AM, Lerch TZ. 2015. Analysing the effect of soil organic matter on bacterial communities using T-RFLP fingerprinting : different methods , different stories ? *Biology and fertility of soils* 52: 959–971.
- Bonnet M, Camares O and Veisseire P. 2000. Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perenne* L. cvApollo). *Journal of Experimental Botany*, vol. 51, no. 346, pp. 945–953.
- Borden KA, Thomas S C, Isaac M E. 2017. Interspecific variation of tree root architecture in a temperate agroforestry system characterized using ground-penetrating radar. *Plant Soil*. 410:323–334
- Bothe H. 2011. Plants in heavy metal soils. In: Sherameti I, Varma, A. (Eds.), *Detoxification of Heavy Metals, Soil Biology*, vol. 30. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 35–57.
- Bourrelier PH, Berthelin J. 1998. Contamination des sols par les éléments traces: les risques et leur gestion. *CR Acc Sci*, 42. Ed. Lavoisier, Paris.
- Bradl H B. 2004 - Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. *J. Colloid Interface Sci*, 277: 1-18.
- Bravin MN, Michaud AM, Larabi B, Hinsinger P. 2010. RHIZOtest: A plant-based biotest to account for rhizosphere processes when assessing copper bioavailability. *Environmental Pollution*. 158, 3330–3337.
- Bressler AJ, and Hannah JA. 2000. *Brownfield redevelopment: a risk verses reward*, 2000.
- Bricas N, Seck P-A. 2004. L'alimentation des villes du Sud : les raisons de craindre et d'espérer, *Cahiers Agriculture*, n° 13, pp10-14
- Brooks RR, Chambers MF, Nicks LJ, & Robinson B H. 1998. Phytomining. *Trends in Plant Science*, 3(9), 359–362.
- Brooks R, Lee J, Reeves RD, Jaffre T. 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *J Geochem. Exp.* 7, 49–57.
- Bruce E P. 2001. Phytoremediation of contaminated soil and groundwater at hazardous waste sites. *EPA*. 540:1–38.
- Brümmer GW, Gerth J, Herms U. 1986. Heavy metal species, mobility and availability in soils. *Z Pflanzenernähr Bodenk* 149, 382-398.



- Brun LA, Maillet J, Hinsinger P, Pe M. 2001. Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environmental pollution*. 111,293-302
- Callender E. 2014. Heavy Metals in the Environment – Historical Trends, Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences: Treatise on Geochemistry (Second Edition) Volume 11: Environmental Geochemistry. Pages 59–89.
- Cao X.R, Luo J.P, Wang, Z.Q. Chen Z.Q, Liu G.Q, Khan M.B, Kang K..J, Feng Y, Le H. Z, Yang X.E. 2020. Responses of soil bacterial community and Cd phytoextraction to a *Sedum alfredii*-oilseed rape (*Brassica napus* L. and *Brassica juncea* L.) intercropping system. *Sci. Total Environ.*, 723 (2020), p. 138152
- Carbonell-Barrachina A, Aarabi M A, Delaune R D, Gambrell R P and Patrick W H J. 1998. Bioavailability and uptake of arsenic by wetland vegetation: effects on plant growth and nutrition. *Environ. Sci. Health* 33: 45–66
- Carvalho Bertoli A, Gabriel Cannata M, Carvalho R, Ribeiro Bastos A.R, Puggina Freitas M, dos Santos Augusto A. 2012. *Lycopersicon esculentum* submitted to Cd-stressful conditions in nutrition solution: Nutrient contents and translocation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 86, 176–181.
- Catherine L. Broadhurst and Rufus L. Chaney. 2016. Growth and Metal Accumulation of an *Alyssum murale* Nickel Hyperaccumulator Ecotype Co-cropped with *Alyssum montanum* and Perennial Ryegrass in Serpentine Soil. *Frontiers in Plant Science*. 7: 451.
- Cecchi L., Gabbrielli R., Arnetoli M., Gonnelli C., Hasko A., Selvi F. 2010. Evolutionary lineages of nickel hyperaccumulation and systematics in European *Alysseae* (*Brassicaceae*): Evidence from nrDNA sequence data. *Annals of Botany*, 106, 751–767
- Chaignon V. 2001. Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas des sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse: Ecole doctorale, Sciences de l'Environnement: Système Terre (2001), Université d'Aix- Marseille.
- Chandra H C, Shekar D, Sammaiah T. Shasthree and Reddy K J. 2011. Effect of mercury on tomato growth and yield attributes. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. vol. 2, no. 2, pp. B358–B364.
- Chaney RL. 1983. Plant uptake of inorganic waste constituents. In Parr, J. F., Marsh, P. B. and Kla, J. M. (eds.) *Land Treatment of Hazardous Wastes*. Noyes Data Corp., Park Ridge. pp. 50-76.
- Chaney RL, Malik M. Li YM, Brown SL, Brewer EP, Angle JS, Baker AJM. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology* 8: 279–284.

- Chang LY, Davison W, Zhang H, Kelly M. 1998. Performance characteristics for the measurement of Cs and Sr by diffusive gradients in thin films (DGT). *Analytica Chimica Acta*. 368, 243–253.
- Chaoui A, Mazhoudi S, Ghorbal MH, Ferjani E. 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effect on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci*. 127:139–147
- Chapelle G. 2013. L'incidence des pollutions urbaines sur les productions alimentaires en ville 1–35.
- Chen HM X.D, Wang CC, Chua H. 2002. Lead phytoextraction from contaminated soils with high-biomass plant species. *Journal of Environmental Quality*. 31, 1893-1900
- Chen H, Cutright T. 2001. EDTA and HEDTA effects on Cd , Cr , and Ni uptake by *Helianthus annuus*. *Chemosphere*. 45: 21–28.
- Chen, Y.X., Lin, Q., Luo, Y.M., He, Y.F., Zhen, S.J., Yu, Y.L., Tian, G.M., Wong, M.H., 2003. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere* 50, 807–811.
- Chen J. 2007. Rapid urbanization in China: A real challenge to soil protection and food security. *Catena*. 69: 1–15.
- Chen M, Lea Q M, Singh S P, Cao R. X, Melamed R. 2003. Field demonstration of in situ immobilization of soil Pb using P amendments. *Advances in Environmental Research*. 8, 93-102
- Chen F, Wang S, Mou S, Azimuddin I, Zhang D, Pan X. 2015. Physiological responses and accumulation of heavy metals and arsenic of *Medicago sativa* L. growing on acidic copper mine tailings in arid lands. *Journal of Geochemical Exploration*, 157, 27–35.
- Chen W & Li H. 2018. Cost-Effectiveness Analysis for Soil Heavy Metal Contamination Treatments. *Water, Air Soil Pollut*. 229: 126
- Chen C, Ren W. 2017. Effects of mutual intercropping on the cadmium accumulation in accumulator plants *Stellaria media*, *Malachium aquaticum*, and *Galium aparine*. *Environ. Monit. Assess* 189, 622.
- Chen, J., Arafat, Y., Wu, L., Xiao, Z., Li, Q., Khan, M.A., Khan, M.U., Lin, S., Lin, W., 2018. Shifts in soil microbial community, soil enzymes and crop yield under peanut/maize intercropping with reduced nitrogen levels. *Appl. Soil Ecol*. 124, 327–334.

- Cheng, M., Wang, P., Kopittke, P.M., Wang, A., Sale, P.W.G., Tang, C., 2016. Cadmium accumulation is enhanced by ammonium compared to nitrate in two hyperaccumulators, without affecting speciation. *J. Exp. Bot.* 67, 5041–5050.
- Cheraghi M, Lorestani B, Khorasani N, Yousef N, Karami M. 2011. Findings on the phytoextraction and phytostabilization of soils contaminated with heavy metals. *Biol Trace Elem Res* 144(1–3):1133– 1141.
- Chibuiké G U, Obiora S C, Chibuiké G U, & Obiora SC. 2014. Heavy Metal Polluted Soils: Effect on Plants and Bioremediation Methods. *Applied and Environmental Soil Science* 2014, 1–12.
- Chopra AK, Pathak C. 2015. Accumulation of heavy metals in the vegetables grown in wastewater irrigated areas of Dehradun, India with reference to human health risk. *Environmental Monitoring and Assessment* 187.
- Chopra AK, Pathak C. 2012. Bioaccumulation and Translocation Efficiency of Heavy Metals in Vegetables Grown on Long-Term Wastewater Irrigated Soil Near Bindal River, Dehradun. *Agricultural Research* 1, 157–164.
- Craul P J. 1999. *Urban Soil: Applications and Practices*, John Wiley and Sons, New York.
- Christophe SCHWARTZ. 1997. *Phytoextraction des métaux des sols pollués par la plante hyperaccumulatrice*. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine.
- Chunling Luo, Zhenguo Shen, Xiangdong L. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere* 59: 1-11.
- Conseil Général 94. 2013a. Diagnostic et schéma de valorisation de l'espace naturel Pierre-Fitte.
- Conseil Général 94. BG Ingénieurs Conseils. 2013b. Evaluation quantitative des risques sanitaires (EQRS) du site de Pierre Frite à Villeneuve-Le-Roi (94)
- Conseil Général 94. Sol Paysage. 2013c. Villeneuve-Le-Roi - Projet d'aménagement d'une friche Pierrefrite. Rapport d'études agro-pédologiques - Version 2 : analyse agronomique complète
- COLINET G. 2003. *Eléments traces métalliques dans les sols : Contribution à la connaissance des déterminants de leur distribution spatiale en région limoneuse belge*, Thèse de Gembloux.
- Comerford NB. 2005. Soil factors affecting nutrient bioavailability. In: BassiriRad H (ed) *Nutrient acquisition by plants an ecological perspective*. Springer, Heidelberg, pp 1–11.

- Cook CM, Kostidou A, Vardaka E and Lanaras T. 1997. Effects of copper on the growth, photosynthesis and nutrient concentrations of Phaseolus plants. *Photosynthetica*, vol. 34, no. 2, pp.179–193.
- Cooper EM, Sims JT, Cunningham SD, Huang JW & Berti WR. 1999. Chelate-assisted phytoextraction of lead from contaminated soils. *J. Environ. Qual.* 28: 1709–1719.
- Costantini, E.A.C., Branquinho, C., Nunes, A., Schwilch, G., Stavi, I., Valdecantos, A., Zucca, C., 2016. Soil indicators to assess the effectiveness of restoration strategies in dryland ecosystems. *Solid Earth* 7, 397–414.
- Criquet S, Joner E, Leglize P, Leyval C. 2000. Anthracene and mycorrhiza affect the activity of oxidoreductases in the roots and the rhizosphere of lucerne 'Medicago sativa L.', *Biotechnol. Lett.* 22 1733–1737.
- Cunningham S D & Ow DW. 1996. Promises and Prospects of Phytoremediation. *Plant Physiology*, 110(3), 715–719.
- Cunningham, Scott D, Berti W R & Huan JW. 1995. Phytoremediation of contaminated soils, manipulating metabolism. *Trends in biotechnology*, 393–397.
- Cui T, Fang L, Wang M, Jiang M, Shen G. 2018. Intercropping of Gramineous Pasture Ryegrass (*Lolium perenne* L.) and Leguminous Forage alfalfa (*Medicago sativa* L.) Increases the Resistance of Plants to Heavy Metals. *Journal of Chemistry*. 11 pages
- Cui YL, Zhu Y. G, Zhai R H, Chen D Y, Huang Y Z, Qiu Y & Liang J Z. 2004. Transfer of metals from soil to vegetables in an area near a smelter in Nanning, China. *Environmental International*, 30, 785–791.
- Darwish M A G & Pöllmann H. 2015. Trace elements assessment in agricultural and desert soils of Aswan area, south Egypt: Geochemical characteristics and environmental impacts. *Journal of African Earth Sciences*, 112, 358–373.
- Dat J, Vandenabeele S, Vranová E, Van Montagu M, Inzé D and Van Breusegem F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* 57(5): 779-795.
- Davison, W., Zhang, H., 1994. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature*. 367, 546-548.
- De Conti L, Ceretta CA, Melo GWB, Tiecher TL, Silva LOS, Garlet LP, Mimmo T, Cesco S, Brunetto G. 2019. Intercropping of young grapevines with native grasses for phytoremediation of Cu-contaminated soils. *Chemosphere* 216, 147-156.
- De Maria, S., Rivelli, A.R., Kuffner, M., Sessitsch, A., Wenzel, W.W., Gorfer, M., Strauss, J.,

- Puschenreiter, M., 2011. Interactions between accumulation of trace elements and major nutrients in *Salix caprea* after inoculation with rhizosphere microorganisms. *Chemosphere*. 84, 1256-126.
- Dechamp C, Meerts P. 2003. La phytoremediation : Panacee pour l'environnement ou menace pour la biodiversité ?, *Les Naturalistes belges*, n°82, pp. 135-148.
- Demirezen D et Ahmet A. 2006. Heavy metal levels in vegetables in turkey are within safe limits for cu, zn, ni and exceeded for Cd and Pb. *J Food Quality*. 29: 252-261
- Denys S, Marot F. 2007. Guide d'échantillonnage de plantes potagères dans le cadre de diagnostics environnementaux, INERIS – ADEME.
- Dirilgen N. 1998. Effects of pH and chelator EDTA on Cr toxicity and accumulation in *Lemna minor*. *Chemosphere* 37: 771–783.
- Dorine BOUQUET. 2018. Gestion in situ des sols jardins potagers modérément contaminés en Plomb. Mémoire de thèse doctorale, université de Nantes
- Doty, Sharon L, James C. A, Moore A. L, Vajzovic A, Singleton G. L, Ma C. 2007. Enhanced phytoremediation of volatile environmental pollutants with transgenic trees. *PNAS*, 16816-16821.
- Doty, Sharon Lafferty & Doty S. L. 2008. Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes, 318–333.
- Douay F, Roussel H, Pruvot C, Lorette A, Fourrier H. 2008. Assessment of a remediation technique using the replacement of contaminated soils in kitchen gardens nearby a former lead smelter in Northern France. *Science of the Total Environment* 401, 29–38.
- Douay F, Pelfrêne A, Planque J, Fourrier H, Richard A, Roussel H, Girondelot B. 2013. Assessment of potential health risk for inhabitants living near a former lead smelter. Part 1: Metal concentrations in soils, agricultural crops, and homegrown vegetables. *Environmental Monitoring and Assessment* 185, 3665–3680.
- Douay F, Pelfrêne A, Richard A, Roussel H, Girondelot B. 2013. Assessment of potential health risk for inhabitants living near a former lead smelter. Part 2: Site-specific human health risk assessment of Cd and Pb contamination in kitchen gardens. *Environmental Monitoring and Assessment* 185, 2999–3012.
- Du Laing G, Vanthuyne DRJ, Vandecasteele B, Tack FMG, Verloo MG. 2007. Influence of hydrological regime on pore water metal concentrations in a contaminated sediment-derived soil. *Environ. Pollut*, 147 : 615-625.

- Dubbeling, M., de Zeeuw, H., Veenhuizen, R., 2010. *Cities Poverty and Food: Multistakeholder Policy and Planning in Urban Agriculture*, Practical Action Publishing, UK.
- Duruibe JO, Ogwuegbu M O C, Egwurugwu J.N. 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *Int. J. Phys. Sci.* 2, 112.
- Ebrahim M. Eid, Sulaiman A. Alrumman, Tarek M. Galal & Ahmed F. ElBebany. 2019. Prediction models for evaluating the heavy metal uptake by spinach (*Spinacia oleracea* L.) from soil amended with sewage sludge. *International Journal of Phytoremediation*, 1549-7879.
- EEA (European Environment Agency). 2000. *Management of contaminated sites in Western Europe*, Topic report No 13/1999. European Environment Agency: Copenhagen, Denmark.
- EEA (European Environment Agency). 2007. *Progress in management of contaminated sites (CSI 015) - Assessment published August*.
- Eid E M. 2017. Effects of different sewage sludge applications on heavy metal accumulation , growth and yield of spinach ( *Spinacia oleracea* L .). *International Journal of Phytoremediation*, 19(4), 340–347.
- Eissa, M.A. 2016. Phosphate and organic amendments for safe production of okra from metal-contaminated soils. *Agronomy Journal*. 108, 2: 540-547
- Eissa Mamdouh Alsayed , Osama Elqusy Negim. 2018. Heavy metals uptake and translocation by lettuce and spinach grown on a metal-contaminated soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 18 (4), 1097-1107.
- El-beltagi H S, Mohamed A A & Rashed M M. 2010. Response of Antioxidative Enzymes to Cadmium Stress in Leaves and Roots of Radish ( *Raphanus sativus* L .). *Notulae Scientia Biologicae*, 2(4), 76–82.
- Epelde L, Hernández-Allica J, Becerril J.M, Blanca F, Garbisu C. 2008. Effects of chelates on plants and soil microbial community: comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction. *Sci. Total Environ* 401: 21–28.
- Epstein E. 1972. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. John Wiley and Sons, London.
- Epstein E. 1999. Silicon. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 641–664.
- Ernst W. 1974. *Schwermetallvegetation der Erde*. G. Fischer, Stuttgart, Germany.
- Ernst WHO, Verkleij JAC, Schat H. 1992. Metal tolerance in plants. *Acta Bot. Neerl.*

41:229–48.

- Escande V, Garoux L, Grison C, Thillier Y, Debart F, Vasseur J-J, Boulanger C, Grison C. 2014. Ecological catalysis and phytoextraction: Symbiosis for future. *Appl Catal B Environ.* 146: 279–288.
- Evangelou MWH, Ebel M, Schaeffer A. 2007a. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. *Chemosphere* 68:989–1003.
- Evangelou, MWH, Kutschinski-Klöss S, Ebel M, Schaeffer A. 2007b. Potential of *Borago officinalis*, *Sinapis alba* L. and *Phacelia boratus* for phytoextraction of Cd and Pb from soil. *Water, Air, and Soil Pollution* 182: 407–416.
- Evans H J, and Sorger G J 1966. Role of mineral elements with emphasis on the univalent cations. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 17: 47–76.
- Fang-dong Zhan, Qin Li, Xian-hua Guo, Jian-bo Tan, Ning-ning Liu, Yan-qun Zu and Yuan Li. 2016. Cadmium and Lead Accumulation and Low-molecularweight Organic Acids Secreted by Roots in an Intercropping of a Cadmium Accumulator *Sonchus asper* L. with *Vicia faba* L. *Royal Society of Chemistry* 6: 33240–33248.
- Farooq R, Khan S, Shahbaz S, Khan M.A, Sadique M. 2009. Health Risk Assessment of Heavy Metals for Population via Consumption of Vegetables. *World Applied Sciences Journal* 6, 1602–1606.
- Ferreira D, Ciffroy P, Tusseau-Vuillemin MH, Bourgeault A, Garnier JM. 2013. DGT as surrogate of biomonitors for predicting the bioavailability of copper in freshwaters: An ex situ validation study. *Chemosphere* 91, 241–247.
- Ferr R, Hashim D, Smith D. R, Guazzetti S, Donna F, Ferretti E. 2015. Science of the Total Environment Metal contamination of home garden soils and cultivated vegetables in the province of Brescia , Italy : Implications for human exposure. *Science of the Total Environment, The*, 518–519, 507–517.
- Foucault Y, Lévêque T, Xiong T, Schreck E, Austruy A, Shahid M, Dumat C. 2013. *Chemosphere* Green manure plants for remediation of soils polluted by metals and metalloids : Ecotoxicity and human bioavailability assessment. *Chemosphere* 93: 1430–1435.
- Foy C D, Chaney R L, White M C. 1978. The Physiology of metal toxicity in plants, J. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 29 511-566.
- FranceAgriMer, April 2016. Pratiques et habitudes de consommation de fruits et légumes. *Matinée études* du 13 avril 2016.

- Frederick Andal A and Johnny Ching A. 2014. Phytoremediation potential of tomato (*lycopersicon esculentum* mill) in artificially contaminated soils. Presented at the DLSU Research Congress 2014 De La Salle University, Manila, Philippines.
- Frost HL, Ketchum LH. 2000. Trace metal concentration in durum wheat from application of sewage sludge and commercial fertilizer. *Adv Environ Res* 4:347–355
- Fytianos K, Katsianis G, Triantafyllou P, Zachariadis G. 2001. Accumulation of Heavy Metals in Vegetables Grown in an. *New York* 423–430.
- Gadd GM. 2004. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma* 122: 109–119.
- Garbisu C, Allica JH, Barrutia O, Alkorta I, Becerril JM. 2002. Phytoremediation: A Technology Using Green Plants to Remove Contaminants from Polluted Areas. *Reviews on Environmental Health* 17.
- Gardea-Torresdey J L, Gonzalez J. H, Tiemann K J, Rodriguez O & Gamez G. 1998. Phytofiltration of hazardous cadmium, chromium, lead and zinc ions by biomass of *Medicago sativa* (Alfalfa). *Journal of Hazardous Materials*, 57(1–3), 29–39.
- Gebrekidan A, Weldegebriel Y, Hadera A, Van der Bruggen B. 2013. Toxicological assessment of heavy metals accumulated in vegetables and fruits grown in Ginfel river near Sheba Tannery, Tigray, Northern Ethiopia. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 95, 171–178.
- George P Cobb, Kristin Sands, Melissa Waters, Bobby G. Wixson and Elaine Dorward-King. 2000. Accumulation of heavy metals by vegetables grown in mine wastes. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 600-6007
- Gerhardt KE, Huang X.D, Glick BR, and Greenberg BM. 2009. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges. *Plant Sci*, 176, 20–30.
- Ghozlan HA. 2003. Rhizobacterial effects on nickel extraction from soil and uptake by *Alyssum murale*. *New phytologist* 158: 219–224.
- Giusti-miller S, Herrmann AM. 2015. Soil Biology & Biochemistry Metabolising old soil carbon : Simply a matter of simple organic. *Soil Biology and Biochemistry* 88: 128–136.
- Glick BR. 1995. The enhancement of plant growth by freeliving bacteria. *Canadian Journal Microbiol* 41:109–117
- Glinska S, Michlewsak S, Gapinska M, Seliger P, Bartosiewicz R. 2014. The effect



- of EDTA and EDDS on lead uptake and localization in hydroponically grown *Pisum sativum* L. *Acta Physiol Plant.* 36: 399-408.
- Gobat JM, Aragno M, Matthey W. 1998. Le sol vivant – Base de pédologie – Biologie des sols. Presses polytechniques et universitaires romandes. Collection gérer l’environnement, p 14.
- Godin P. 1983. Les sources de pollution des sols; essai de quantification des risques dus aux éléments traces. *Science du sol.* 73-88.
- Gomez A., Solda P., Lambrot C., Wilbert J., Juste C. 1992. Bilan des éléments-traces métalliques transférés dans un sol sableux après 16 années d’apports continus et connus de boues de station d’épuration et de fumier de ferme en monoculture de maïs. Ministère de l’Environnement, Convention de Recherche n° 89-256.
- Gong Z, Lin P, Chen J, Hu X. 2001. Classical farming systems of China. *J. Crop Prod.* 3, 11–21.
- Gonzaga MIS, Santos JAG, Ma LQ. 2006. Arsenic phytoextraction and hyperaccumulation by fern species. *Sci. Agric.* 63: 90–101.
- Gove B, Hutchinson JJ, Young S D, Craigan J and McGrath SP. 2002. Uptake of metals by plants sharing a rhizosphere with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Int. J. Phytorem.* 4: 267–281.
- Grant CA, Buckley WT, Bailey LD, Selles F. 1998. Cadmium accumulation in crops. *Canadian Journal of Plant Science* 78, 1–17.
- Greaver T, Sullivan TJ, Herrick JD, Barber MC, Baron JS, Cosby BJ, Deerhake ME, Dennis RL, Dubois JJB, Goodale CL, Herlihy AT, Lawrence GB, Liu L, Greger Maria and Martina Löfstedt. 2004. Comparison of Uptake and Distribution of Cadmium in Different Cultivars of Bread and Durum Wheat. *Crop ecology, management & quality*, p. 501-507.
- Gulz Petra Angela, Satish-Kumar Gupta and Rainer Schulin. 2005. Arsenic accumulation of common plants from contaminated soils. *Plant and Soil* 272: 337-347.
- Guo Wang, Miao-Yu Su, Yan-Hui Chen, Fen-Fang Lin, Dan Luo, Shu-Fang Gao. 2006. Transfer characteristics of cadmium and lead from soil to the edible parts of six vegetable species in southeastern China. *Environmental Pollution*, 144, 127 -135.
- Haller H, Jonsson A. 2020. Growing food in polluted soils: A review of risks and

- opportunities associated with combined phytoremediation and food production (CPFP) *Chemosphere*. 254, 126826.
- Haque R, Zakir H M, Aysha M I J, Mallick S & Shahinur M R. 2018. Heavy Metal Uptake Pattern and Potential Human Health Risk through Consumption of Tomato Grown in Industrial Contaminated Soils. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*, 5(4), 1–11.
- Hladun KR, Parker DR & Trumble J T. 2015. Cadmium , Copper , and Lead Accumulation and Bioconcentration in the Vegetative and Reproductive Organs of *Raphanus sativus* : Implications for Plant Performance and Pollination. *J Chem Ecol* 41: 386–395.
- Hough RL, Breward N, Young S D, Crout N M J, Tye A M, Moir A M & Thornton I. 2004. Assessing potential risk of heavy metal exposure from consumption of home-produced vegetables by urban populations. *Environmental Health Perspectives*, 112, 215–221.
- Hseu ZY, Jien SH, Wang SH, Deng HW. 2013. Using EDDS and NTA for enhanced phytoextraction of Cd by water spinach. *Environmental Management* 117: 58–64.
- Huang JW, Chen J, Berti WR, Cunningham SD. 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environmental Science and Technology* 31: 800–805.
- Huang K.W., Liao, M.A., Lin, L.J., 2015. Effects of interplantation ratio of two ecotypes of *Bidens pilosa* on cadmium accumulation. *J. Ecol. Rural Environ.* 31, 753-759.
- Huang J., Guo S., Zeng G M., Li F., Gu Y, Shi Y., Shi L., Liu W., Peng S. 2018. A new exploration of health risk assessment quantification from sources of soil heavy metals under different land use. *Environ. Pollut.* 243, 49–58.
- Hudson-Edwards K. A, Macklin M G, Curtis CD and Vaughan D J. 1998. Chemical remobilization of contaminant metals within floodplain sediments in an incising river system: implications for dating and chemostratigraphy. *Earth Surf. Process. Landforms* 23, 671–684.
- Hussain A, Abbas N, Arshad F. 2013. Effects of diverse doses of lead (Pb) on different growth attributes of *Zea mays* L., *Agricultural Sciences*, vol. 4, no. 5, pp. 262–26.
- Jahangard A, Ghobadi A, Sohrabi M & Beigmohammadi Z. 2016. Determination and Evaluation of Copper , Lead and Zinc in Leek Vegetable from Some Olericulture Farms, *Arch Hyg Sci*; 5(2), 64–68.
- Jamil S, Abhilash P C, Singh N & Sharma PN. 2009. *Jatropha curcas* : A potential crop for phytoremediation of coal fly ash. *J. Hazard. Mater* 172, 269–275.

- Jayakumar K, Rajesh M, Baskaran L and Vijayarengan P. 2013. Changes in nutritional metabolism of tomato (*Lycopersicon esculantum* Mill.) plants exposed to increasing concentration of cobalt chloride. *Int J of Food Nutrition Safety*, vol. 4, no. 2, pp. 62–69.
- Jayakumar K, Jaleel C A, and Vijayarengan P. 2007. Changes in growth, biochemical constituents, and antioxidant potentials in radish (*Raphanus sativus* L.) under cobalt stress. *Turkish Journal of Biology*, vol. 31, no. 3, pp. 127–136.
- Jaworska JS, Schowanek D, Feijtel TCJ. 1999. Environmental risk assessment for trisodium [S,S]-ethylene diamine disuccinate, a biodegradable chelator used in detergent applications. *Chemosphere* 38: 3597–3625.
- Jensen ES, Hauggaard-Nielsen H. 2003. How can increased use of biological N<sub>2</sub> fixation in agriculture benefit the environment? *Plant Soil* 252, 177–186.
- Cheng-ai Jiang, Qi-Tang Wu, Thibault Sterckeman, Christophe Schwartz, Catherine Sirguy, Stéphanie Ouvrard, Jérôme Perriguy, Jean-Louis Morel. 2010. Co-planting can phytoextract similar amounts of cadmium and zinc to mono-cropping from contaminated soils. *Ecological Engineering* 36. 391-395
- Jiang C, Wu Q, Zeng S, Chen X, Wei Z, Long X. 2013. Dissolution of different zinc salts and Zn uptake by *Sedum alfredii* and maize in mono- and co-cropping under hydroponic culture. *Journal of Environmental Sciences* 25, 1890–1896.
- Joimel S. 2015. Biodiversité et caractéristiques physicochimiques des sols de jardins associatifs urbains français. Thèse, Université de Lorraine.
- Joner EJ, Briones R, Leyval C. 2000. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium 227–234.
- Jonge de LW, Kjaergaard Cand Moldrup P. 2004. Colloids and Colloid-Facilitated Transport of Contaminants in Soils. *Vadose Zone journal*, p. 321-325.
- Junghun Lee and Kijune Sung. 2014. Effects of chelates on soil microbial properties, plant growth and heavy metal accumulation in plants. *Ecological Engineering* 73: 386-394.
- Juste C. 1988. Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol. *Sciences du Sol* 26, 103-112.
- Kabata-Pendias A. 2011. Trace elements in soils and plants, 4 th Ed . CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton London New York,
- Kabata-Pendias A. 2004. Soil-plant transfer of trace elementsean environmental issue. *Geoderma* 122, 143e149.

- Kachenko AG and Singh B. 2006. Heavy metals contamination in vegetables grown in urban and metal smelter contaminated sites in Australia. *Water, Air, and Soil Pollution*, 169, 101–123.
- Karczewska A, Gałka B, Kabała C, Szopka K, Kocan K & Dziamba K. 2009. Effects of various chelators on the uptake of Cu, Pb, Zn and Fe by maize and Indian mustard from silty loam soil polluted by the emissions from copper smelter. *Fresenius Environmental Bulletin*, 18(10 A), 1967–1974.
- Karpenstein-Machan M, Stuelpnagel R. 2000. Biomass yield and nitrogen fixation of legumes monocropped and intercropped with rye and rotation effects on a subsequent maize crop. *Plant Soil* 218, 215–232.
- Khalid B Y and Tinsley J. 1980. Some effects of nickel toxicity on rye grass. *Plant and Soil*, vol. 55, no. 1, pp. 139–144.
- Khan AG. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18, 355-364.
- Khan S, Cao Q, Zheng YM, Huang Y Z and Zhu YG. 2008. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environmental Pollution*, vol. 152, no. 3, pp. 686–692.
- Khan A, Javid S, Muhmood A, Mjeed T, Nia A, Majeed A. 2013. Heavy metal status of soil and vegetables grown on peri-urban area of Lahore district Results and Discussion. *Soil Environ* 32(1), 49–54.
- Kidd P.S., Dominguez-Rodriguez D.M., Monterroso C. 2007. Bioavailability and plant accumulation of heavy metals and phosphorus in agricultural soils amended by long-term application of sewage sludge. *Chemosphere* 66: 1458–1467.
- Kim H K, Jang T I, Kim SM & Park S W. 2014. Impact of domestic wastewater irrigation on heavy metal contamination in soil and vegetables. *Environmental Earth Sciences*, 73(5), 2377–2383.
- Kim K, Kim S. 1999. Heavy metal pollution of agricultural soils in central regions of Korea. *Water, Air and Soil Pollution* 111: 109–122.
- Konate A, He X, Zhang Z, Ma Y, Zhang P, Alugongo G M, Rui Y. 2017. Magnetic (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles reduce heavy metals uptake and mitigate their toxicity in wheat seedling. *Sustainability* 9, 790

- Kos B, Leštan D. 2003 .Influence of a biodegradable ([S,S]-EDDS) and nondegradable (EDTA) chelate and hydrogel modified soil water sorption capacity on Pb phytoextraction and leaching. *Plant and Soil* 253: 403–411.
- Koster M, Reijnders L, Van Oost NR, Peijnenburg W J G M. 2005. Comparison of the method of diffusive gels in thin films with conventional extraction techniques for evaluating zinc accumulation in plants and isopods. *Environmental Pollution* 133, 103–116.
- Kowalska J, Huszal S, Sawicki MG, Asztemborska M, Stryjewska E & Szalacha E. 2004. Voltammetric Determination of Platinum in Plant Material. *Int J Devoted Electronalysis, Sensors and Bioelectronic Devis*, 1266–1270.
- Krämer U. 2005. Phytoremediation: Novel approaches to cleaning up polluted soils. *Current Opinion in Biotechnology* 16: 133–141.
- Krämer U. 2010. Metal Hyperaccumulation in Plants. *Annual Review of Plant Biology* 61, 517–534.
- Kumar Vinod, Chopra A K. 2014. Accumulation and Translocation of Metals in Soil and Different Parts of French Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Amended with Sewage Sludge. *Bull Environ Contam Toxicol*. 92:103–108
- Kumpiene J, Lagerkvist A, Maurice C. 2007. Stabilization of Pb- and Cu-contaminated soil using coal fly ash and peat. *Environmental Pollution* 145, 365–373.
- Lambrechts T, Lequeue G, Lobet G, Godin B, Bielders C L & Lutts S. 2014. Comparative analysis of Cd and Zn impacts on root distribution and morphology of *Lolium Perenne* and *Trifolium repens*: Implications for phytostabilization. *Plant and Soil*, 376(1), 229–244.
- Lamy I. 2002. Réactivité des matières organiques des sols vis-à-vis des métaux. *Journées nationales de l'étude des sols*.
- Lanier C, Bernard F, Dumez S, Leclercq J, Lemièrre S, Vandebulcke F. 2016. Combined effect of Cd and Pb spiked field soils on bioaccumulation, DNA damage, and peroxidase activities in *Trifolium repens*. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(2), 1755–1767.
- Lasat MM, Pence N. S, Larsen PB, Ebbs S D, Letham D L D, Garvin D F. 2000. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 51(342), 71–79.
- Lebourg A, Sterckeman T, Ciesielski H, Proix N, Lebourg A, Sterckeman T. 1996. Intérêt de

- différents réactifs d' extraction chimique pour l' évaluation de la biodisponibilité des métaux en traces du sol To cite this version : HAL Id : hal-00885788 pour l' évaluation de la biodisponibilité des métaux.
- Lee J & Sung K. 2014. Effects of chelates on soil microbial properties, plant growth and heavy metal accumulation in plants. *Ecological Engineering*, 73, 386–394.
- Leitao L. 2005. Impact de l'ozone sur la photosynthèse : effets sur les carboxylases (PEPc et Rubisco) des plantes en C3 et en C4. Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 237 p.
- Leschber R, Davis RD, L'Hermite P. 1984. Chemical methods for assessing bio-available metals and soils. CEC, Elsevier Applied Science Publishers. Vol. 12 n°123 344-362.
- L'Huillier L., 1994. Biodisponibilité du nickel dans les sols ferrallitiques ferritiques de Nouvelle-Calédonie. Effets toxiques du nickel sur le développement et la physiologie du maïs. Thèse de Doctorat de l'Université de Montpellier II. 249 p.
- Li JT, Liao B, Dai ZY, Zhu R, Shu WS. 2009. Phytoextraction of Cd-contaminated soil by carambola (*Averrhoa carambola*) in field trials. *Chemosphere* 76, 1233-1239
- Li F, Qiu Z, Zhang J, Liu W, Liu C, Chaoyang Liu and Guangming Zeng. 2017. Investigation , Pollution Mapping and Simulative Leakage Health Risk Assessment for Heavy Metals and Metalloids in Groundwater from a Typical. *Environmental Research and Public Health* 1–17.
- Li Z.R, Wang J.X, An L.Z, Tan J.B, Zhan F.D, Wu J, Zu Y.Q. 2019. Effect of root exudates of intercropping *Vicia faba* and *Arabis alpina* on accumulation and sub-cellular distribution of lead and cadmium. *Int. J. Phytoremediation* 21, 4–13.
- Li N Y, Li Z A, Zhuang P, Zou B, McBride M. 2009. Cadmium uptake from soil by maize with intercrops. *Water, Air, and Soil Pollution* 199, 45–56.
- Li Yang, Guiping Wang, Zhineng Cheng, Yue Liu, Zhenguo Shen, Chunling Luo. 2013. Influence of the application of chelant EDDS on soil enzymatic activity and microbial community structure . *Hazardous Materials* 262: 561-570
- Li LY and Li RS. 2000. The role of clay minerals and effect of H<sup>+</sup> ions on removal of heavy metal (Pb<sup>2+</sup>) from contaminated soil. *Can. J. Geotech/Rev.* 37 : 296-307.
- Li Wang, Rong Zou, Yuncong C. Li, Zhaohui Tong, Meng You, Wenmin Huo, Keyu Chi, Hongli Fan. 2020. Effect of Wheat-*Solanum nigrum* L. intercropping on Cd

- accumulation by plants and soil bacterial community under Cd contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* . 206.
- Lienemann CP. 2005. Analyse de métaux traces dans les produits pétroliers, état de l'art. *Oil & Gas Science and Technology – Rev. IFP*, Vol. 60, No. 6, pp. 951-965.
- Lin L, Chen F, Wang J, Liao M, Lv X, Wang Z, Li H, Deng Q, Xia H, Liang D, Tang Y, Wang X, Lai Y, Ren W. 2018. Effects of living hyperaccumulator plants and their straws on the growth and cadmium accumulation of *Cyphomandra betacea* seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 155, 109–116.
- Lin L, Liao Ma, Mei L, Cheng J, Liu J, Luo L, Liu Y. 2014. Two ecotypes of hyperaccumulators and accumulators affect cadmium accumulation in cherry seedlings by intercropping. *Environ. Prog. Sustain. Energy* 33, 1251–1257.
- Ling Xu, Juanjuan Li, Ullah Najeeb, Xin Li, Jianmin Pan, Qian Huang, Weijun Zhou, Zongsuo Liang. 2021. Synergistic effects of EDDS and ALA on phytoextraction of cadmium as revealed by biochemical and ultrastructural changes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) tissues. *Journal of Hazardous Materials*, 407, 124764.
- Lincoln Taiz and Eduardo Zeiger. 2002. *Plant Physiology*, 3rd ed. Publisher: Sinauer Associates; 3 edition (Aug 30 2002). 690p
- Lingyao An, Yanhui Pan, Zhubing Wang & Cheng Zhu. 2011. Heavy metal absorption status of five plant species in monoculture and intercropping. *Plant Soil*, 345:237–245
- Ling W, Shen Q, Gao Y, Gu X, and Yang Z. 2007. Use of bentonite to control the release of copper from contaminated soils. *Australian Journal of Soil Research*, vol. 45, no. 8, pp. 618–623.
- Liu W, Zhao J, Ouyang Z, So L. 2005. Impacts of sewage irrigation on heavy metal distribution and contamination in Beijing , China. *Environment International*, 31, 805–812.
- Liu Xiaomei, Wu Qitang, Katherine Banks M. 2005. Effect of simultaneous establishment Of *sedum alfredii* and *zea mays* on heavy Metal accumulation in plants. *International Journal of Phytoremediation*, 7(1): 43-53
- Liu Z, Shi B, Wu J, Kong M. 2006. The spot diagram of waveguide geodesic lens. *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering* 6034, 3–13.
- Liu L, Li Y, Tang J, Hu L & Chen X. 2011. Plant coexistence can enhance phytoextraction of cadmium by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) in contaminated soil. *Journal of*

- Environmental Sciences, 23(3), 453–460.
- Liu L, Zhang Q, Hu L, Tang J, Xu L, Yang X, Jean WH, Chen X. 2012. Legumes can increase cadmium contamination in neighboring crops. *Plos One* 7(8):94–99.
- Liu S, Liu Y, Yang X, Tong C, Edwards D, Parkin I A P. 2014. The Brassica oleracea genome reveals the asymmetrical evolution of polyploid genomes. *Nature Communications*, 5(May), 1–11.
- Liu Z, Ge H, Li C, Zhao Z, Song F, Hu S. 2015. Enhanced phytoextraction of heavy metals from contaminated soil by plant co-cropping associated with PGPR. *Water Air Soil Pollut.* 226
- Liu Y., Lei S.G, Chen X.Y. 2016. Assessment of heavy metal pollution and human health risk in urban soils of a coal mining city in East China. *Hum. Ecol. Risk Assess*, 22, 1359–1374.
- Lopareva-Pohu A, Verdin A, Garon G, Louns-Hadj Sahraoui A, Pourrut B, Debiane D. 2011. Influence of fly ash aided phytostabilisation of Pb, Cd and Zn highly contaminated soils on *Lolium perenne* and *Trifolium repens* metal transfer and physiological stress. *Environmental Pollution*, 159(6), 1721–1729.
- Luo C, Shen Z, Li X. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere*. 59: 1–11.
- Luo C, Shen Z, Li X, Baker AJM. 2006a. Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS. *Chemosphere* 63: 1773–1784.
- Luo C, Shen Z, Lou L, Li X. 2006b. EDDS and EDTA-enhanced phytoextraction of metals from artificially contaminated soil and residual effects of chelant compounds. *Environmental Pollution* 144: 862–871.
- Luo C, Liu C, Wang Y, Liu X, Li F, Zhang G, Li X. 2011. Heavy metal contamination in soils and vegetables near an e-waste processing site, south China. *Journal of Hazardous Materials* 186, 481–490.
- Lu Q, Li,J, Chen F, Liao M, Lin L, Tang Y, Liang D, Xia H, Lai Y, Wang X, Lynch JA and Novak KJ. 2012. Ecological effects of nitrogen and sulfur air pollution in the US : what do we know ? *Frontiers in Ecology and the Environment*, 365-372.
- luyao Ma, Yaru Liu, Yingjie Wu, Qiong Wang, Zulfiqar Ali Sahito, Qiyao Zhou, Lukuan Huang, Tingqiang Li, Ying Feng. 2020. The effects and health risk assessment of



- cauliflower co-cropping with *Sedum alfredii* in cadmium contaminated vegetable field. *Environmental Pollution* 268.
- Mahmood T. 2010. Phytoextraction of heavy metals - the process and scope for remediation of contaminated soils. *Soil and Environment*, 29(2), 91–109.
- Malik RN, Husain SZ, Nazir I. 2010. Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of Islamabad, Pakistan. *Pak J Bot* 42(1):291–301.
- Mamoun A. Gharaibeh, Ammar A. Albalasmeh, Bernd Marschner, Yasmeen Saleem. 2016. Cadmium Uptake and translocation of tomato in response to simulated irrigation water containing elevated concentrations of Cadmium and Zinc in clayey Soil. *Water Air Soil Pollut*, 227: 133
- Marin AR, Pezeshki SR, Masscheleyn PH, and Choi HS. 1993. Effect of dimethylarsinic acid (DMAA) on growth, tissue arsenic and photosynthesis of rice plants. *Journal of Plant Nutrition*, vol. 16, no. 5, pp. 865–880.
- Mark P de Souza, Elizabeth A.H, Pilon-Smits C, Mel Lytle, Seongbin Hwang, Jenny Tai, Todd S U, Honma, Lucretia Yeh, Norman Terry. 1998. Rate-limiting steps in Selenium assimilation and volatilization by Indian mustard. *Plant Physiol*. 117: 1487–1494.
- Martin, A., Nolin, M.C. et (Canada), C. de recherches sur les terres et les ressources biologiques. (1991) Étude pédologique du comté de Chambly (Québec): Description et interprétation des unités cartographiques. Direction générale de la recherche, Agriculture Canada.
- Masa SR, Lando R, Sarid R. 2008. Transcriptional regulation of the open reading frame 35 encoded by Kaposi's Sarcoma-associated herpesvirus. *Virology* 371, 14–31.
- Massas I, Kalivas D, Ehaliotis C *et al.*, 2013. Total and available heavy metal concentrations in soils of the Thriassio plain (Greece) and assessment of soil pollution indexes. *Environ Monit Assess* 185: 6751–6766.
- Mathieu C, Pieltain F. 2003. *Analyse chimique des sols : méthodes choisies*, Lavoisier, Paris.
- Mathieu, A., Baize, D., Raoul, C., Daniau, C., 2008. Proposition de référentiels régionaux en éléments traces métalliques dans les sols : leur utilisation dans les évaluations des risques sanitaires. *Environnement Risques Santé*. 7, 112-122.
- Materechera SA. 2018. Soil properties and subsoil constraints of urban and peri-urban agriculture within Mahikeng city in the North West Province (South Africa). *J Soils Sediments* 18:494–505.

- Mayol, P., Gangneron, E., 2019. L'agriculture urbaine : un outil déterminant pour des villes durables, Avis Conseil économique, social et environnemental, Journaux Officiels, Paris.
- McBride M B. 2003. Toxic metals in sewage sludge- amended soils: has promotion of beneficial use discounted the risks? *Advances in Environmental Research*, 8, 5–19
- McGrath S P. 1998. Phytoextraction for soil reclamation. In: R. R. Brooks (Ed.), *Plants that hyperaccumulate heavy metal. Their role in phytoremediation. Microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining* . Wallingford: CAB International. pp. 261–287
- Meers E, Ruttens A, Hopgood M J, Samson D & Tack F MG. 2005. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, 58(8), 1011–1022.
- Megharaj M & Naidu R. 2017. Soil and brown field bioremediation. *Microbial biotechnology*, 10, 1244–1249.
- Mejäre M & Bülow L. 2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. *Trends in Biotechnology*, 19(2), 67–73.
- Memon AR & Schröder P. 2009. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environ Sci Pollu Res*, 16: 162–175.
- Mench M, Schwitzguébel J. 2009. Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies : contaminant uptake , detoxification and sequestration , and consequences for food safety. *Science and pollution* 16: 876–900.
- Mench M., 1993. Notions sur les elements en traces pour une qualite des sols et des produits vegetaux. *Purpan*, 166, 118-127.
- Mendez MO & Maier R.M. 2008. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments - An emerging remediation technology. *Environmental Health Perspectives*, 116(3), 278–283.
- Mengel K and Kirkby E A. 1987. *Principles of Plant Nutrition.. International Potash Institute, Worblaufen-Bern, Switzerland. Soil Biology and Biochemistry*, 1979, Vol.11(5), pp.553-554
- Michaille P. 2014. La bioremédiation – application à la décontamination des sols et des eaux polluées par des éléments métalliques toxiques ou radioactifs, Article N°38 : association des retraités du groupe cea groupe argumentaire sur le nucléaire, ARCEA/GASN, Ind. 1 du 03 novembre 2014.
- Mihali C, Michnea A, Oprea G, Gogoia I, Pop C, Senil M & Grigor L. 2012. Trace element

- transfer from soil to vegetables around the lead smelter in Baia Mare , NW Romania, 10(January), 10–14.
- Miller FS, Kilminster KL, Degens B, Firms GW. 2010. Relationship between metals leached and soil type from potential acid sulphate soils under acidic and neutral conditions in Western Australia. *Water, Air, Soil, Poll*, 205: 133-147.
- Mina Aylaj, El Kbir Lhadi & Fabrizio Adani. 2018. Municipal Waste and Poultry Manure Compost Affect Biomass Production, Nitrate Reductase Activity and Heavy Metals in Tomato Plants. *Journal Compost Science & Utilization*.
- Mishra A, Tripathi BD. 2008. Heavy metal contamination of soil, and bioaccumulation in vegetables irrigated with treated waste water in the tropical city of Varanasi, India. *Toxicol Environ Chem* 90(5):861–871.
- Moral R, Navarro Pedreno J, Gomez I and Mataix J. 1995. Effects of chromium on the nutrient element content and morphology of tomato. *Journal of Plant Nutrition*, vol. 18, no. 4, pp. 815–822.
- Morel JL. 1985. Contribution a l'étude des transferts de métaux lourds dans le système sol-plante: le rôle des mucilages racinaires. Thèse d'Etat, Institut National Polytechnique de Lorraine Nancy, pp 172.
- Morel JL. 1997. Bioavailability of Trace Elements to Terrestrial Plants. pp. 142-167.
- Mougeot LJA. 2005. *Agropolis: The Social, Political and Environmental Dimensions of Urban Agriculture*. IDRC, Earthscan, London, 286 pp.
- Mueller B, Rock S, Gowswami Dib, Ensley D. 1999. *Phytoremediation DecisionTree*. – Prepared by - Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group; pp 1-36.
- Muhammad Farooq, Farooq Anwar and Umer Rashid. 2008. Appraisal of heavy metal contents in different vegetables grown in the vicinity of an industrial area. *Pak. J. Bot*, 40(5): 2099-2106
- Mukhopadhyay et Maiti. 2010. Phytoremediation of Metal Enriched Mine Waste: A review. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*, 9(5): 560-575.
- Müller M, Anke M. 1994. Distribution of cadmium in the food chain (soil-plant-human) of a cadmium exposed area and the health risks of the general population. *Science of the Total Environment* 156: 151–158.

- Nabulo G, Young S D & Black C R. 2010. Assessing risk to human health from tropical leafy vegetables grown on contaminated urban soils. *Science of the Total Environment*, 408, 5338– 5351
- Nagahashi G, Thompson W et Leonard R. 1974. The Casparian strip as a barrier to the movement of lanthanum in corn roots. *Science*, 183, p 670\_671. Morel J.L., Leyval C., Berthelin J., 1994. Influence de l'activité rhizosphérique sur la mobilité et le prélèvement des métaux lourds. Ministère de l'Environnement, Convention de Recherche n° 91147.
- Nafiseh Nematshahi, Mehrdad Lahouti and Ali Ganjeali. 2012. Accumulation of chromium and its effect on growth of (*Allium cepa* cv. Hybrid). *European Journal of Experimental Biology*, 2 (4):969-974.
- Naser H. M, Rahman M Z, Sultana S, Quddus M A, & Hossain MA. 2018. Heavy metal accumulation in leafy vegetables grown in industrial areas under varying levels of pollution. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 43(1), 39–51.
- Nataša Mirecki, Rukie Agič, Ljubomir Šunić, Lidija Milenković and Zoran S Ilić. 2015. Transfer factor as indicator of heavy metals content in plants. *Fresenius Environmental Bulletin*.
- Nathanail P, Thornton G and Millar K. 2003. What's in a Word: UK and international definitions of 'brownfield'. *Sustain* 4 (3)
- Ngayila N, Botineau M, Baudu M, Basly J. 2009. *Myriophyllum alterniflorum* DC . Effect of low concentrations of copper and cadmium on somatic and photosynthetic endpoints : A chemometric approach 9, 307–312.
- Ni C Y, Shi J Y, Luo Y M and Chen Y X. 2004. Co-culture engineering” for enhanced phytoremediation of metal contaminated soils. *Pedosphere* 14(4): 475-482.
- Noble AD, Suzuki S, Soda W, Ruaysoongnern S, Berthelsen S. 2008. Soil acidification and carbon storage in fertilized pastures of Northeast Thailand. *Geoderma* 144, 248–255.
- Noctor G, Foyer CH. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 249–279.
- Nyles CB. and Ray R N. 1999. *The Nature and Properties of Soils*, 12th ed., pp. 743–785. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey
- Oliver L, Ferber U, Grimski D, Millar K et Nathanail P. 2005. The scale and nature of European brownfields. In Cabernet International Conference on Managing Urban Land. Cabernet International Conference on managing urban land.
- Olowe VIO, Adeyemo AY. 2009. Enhanced crop productivity and compatibility

- through intercropping of sesame and sunflower varieties. *Ann. Appl. Biol.* 155, 285-291.
- O'Neill P. 1995. Arsenic, In *Heavy Metals in Soils*. Ed. B J Alloway, pp 105–121.
- Onieczka P I K, Anikowska A N N A M, Ntonkiewicz J A A & Amies J A N. 2012. The dose-dependent influence of zinc and cadmium contamination of soil on their uptake and glucosinolate content in white cabbage ( *brassica oleracea* var . *Capitata* f . *Alba* ). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(11), 2482–2489.
- Orłowska E, Zubek S, Jurkiewicz A, Szarek-Łukaszewska G & Turnau K. 2002. Influence of restoration on arbuscular mycorrhiza of *Biscutella laevigata* L. (*Brassicaceae*) and *Plantago lanceolata* L. (*Plantaginaceae*) from calamine spoil mounds. *Mycorrhiza*, 12(3), 153–160.
- Öztürk E, Atsan E, Polat T, Kara K. 2011. Variation in heavy metal concentrations of potato (*Solanum tuberosum* L .) cultivars. *Journal of Animal & plant Sciences*. 21, 235–239.
- Padmavathiamma PK & Li L Y. 2007. Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. *Water, Air, and Soil Pollution*, 184(1–4), 105–126.
- Pallavi Sharma and Rama Shanker Dubey. 2005. Lead toxicity in plants. *Toxic metals in plants. Braz. J. of Plant Physiology*, 17(1): 35-52
- Pantola RC, Alam A. 2014. Potential of *Brassicaceae* Burnett (Mustard family; Angiosperms ) in Phytoremediation of Heavy Metals. *International Journal of Scientific Research in Environmental Sciences* 2: 120–138.
- Parkin I A P, Koh, C, Tang H, Robinson SJ, Kagale S, Clarke WE, Town CD, Nixon J. 2014. Transcriptome and methylome profiling reveals relics of genome dominance in the mesopolyploid *Brassica oleracea*. *Genome Biology* 15: 1–18.
- Parvaiz Ahmad. 2016. *Plant Metal Interaction. Emerging Remediation Techniques*. Department of Botany, S.P. College, Srinagar, Jammu and Kashmir, India.
- Paulin V. 1995. Caractérisation d'éléments-traces dans le sol : etude du transfert dans une culture de maïs en champs. *Mémoire de fin d'études, ENESAD, Dijon*.
- Paton GI, Campbell CD, Anne Glover L and Killham K. 1995. Assessment of bioavailability of heavy metals using lux modified constructs of *Pseudomonas fluorescens*. *Letters in Applied Microbiology*, 20, 52-56.
- Paysage, S.O.L. 2013. Villeneuve-Le-Roi Projet d 'aménagement d 'une friche - Pierrefrite 1–40.

- Pedro G & delmas A. 1970. Les principes géochimiques de la distribution des éléments traces dans les sols. *Annales agronomiques - Numéro special: Les oligo-éléments en France*, 21, 483-518.
- Pendergrass A & Butcher D J. 2006. Uptake of lead and arsenic in food plants grown in contaminated soil from Barber Orchard, NC. *Microchemical Journal*, 83(1), 14–16.
- Pérez-de-Mora, A., Burgos, P., Cabrera, F., Madejón, E., 2007. “In Situ” amendments and revegetation reduce trace element leaching in a contaminated soil. *Water Air Soil Pollut.* 185, 209–222.
- Peters RW. 1999. Chelant extraction of heavy metals from contaminated soils. *Hazardous Materials* 66: 151–210.
- Piechalak A, Tomaszewska B, Baralkiewicz D & Malecka A. 2002. Accumulation and detoxification of lead ions in legumes. *Phytochemistry*, 60(2), 153–162.
- Pilon-Smits E. 2005. Phytoremediation. *Annu Rev Plant Biol* 56:15–39.
- Plette A C C, Nederlof M. M, Temminghoff E J M et van Riemsdijk W H. 1999. Bioavailability of heavy metals in terrestrial and aquatic systems: a quantitative approach. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 1882-1890.
- Pollutec. 2007. Contamination de Plantes Potagères.
- Pourrut B, Shahid M, Douay F, Dumat C, Pinelli E. 2013. Molecular mechanisms involved in lead uptake, toxicity and detoxification in higher plants. In: *heavy metal stress in plants*. Springer, Berlin, pp 121–147.
- Pourrut B. 2008. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse de l’Université de Toulouse. 297 p
- Prasad MNV, Hagemeyer J. 1999. Heavy metal stress in plants. From molecules to ecosystems. Springer. 401 p.
- Priscila Lupino Gratão, Majeti Narasimha Vara Prasad, Patrícia Felipe Cardoso, Peter John Lea and Ricardo Antunes Azevedo. 2005. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. *Brazilia Journal of Plant Physiology*. 12 p.
- Pruvot C, Douay F, Hervé F, Waterlot C. 2006. Heavy metals in soil, crops and grass as a source of human exposure in the former mining areas. *Journal of Soils and Sediments* 6, 215–220.
- Pyatt FB, Wilson B. 2007. Heavy Metal Bioaccumulation by the Important Food Plant , *Olea europaea* L ., in an Ancient Metalliferous Polluted Area of Cyprus. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 78: 390–394.

- Qiu JR, Guo XF, Cai QY, Liu W, Zhang MW, Wei ZB, Wu QT. 2014. Phytotreatment of Sewage Sludge Contaminated by Heavy Metals and Pahs by Co-Planting *Sedum Alfredii* and *Alocasia Marorrhiza*. *International Journal of Phytoremediation* 16, 1–13.
- Qiyu Lu, Jianhua Li, Fabo Chen, Ming'an Liao, Lijin Lin, Yi Tang, Dong Liang, Hui Xia, Yunsong Lai, Xun Wang, Cheng Chen, Wei Ren. 2017. Effects of mutual intercropping on the cadmium accumulation in accumulator plants *Stellaria media*, *Malachium aquaticum*, and *Galium aparine*. *Environ Monit Assess*, 189: 622
- Quartacci M.F., Irtelli B., Gonnelli C., Gabbriellini R., Navari-Izzo F. 2009. Naturally-assisted metal phytoextraction by *Brassica carinata*: Role of root exudates. *Environ. Pollut.* 157, 2697-2703.
- Radulescu C, Stihi C, Popescu IV, Dulama ID, Chelarescu ED, Chilian A. 2013. Heavy metal accumulation and translocation in different parts of *Brassica oleracea* L. *Rom. Phys* 58: 1337–1354.
- Ramez Farajallah Saad, Ahmad Kobaiissi, Gaylord Machinet, Geneviève Villemin, Guillaume Echevarria, Emile Benizri. 2017. Crop rotation associating a legume and the nickel hyperaccumulator *Alyssum murale* improves the structure and biofunctioning of an ultramafic soil. *Ecological Research*, pages 799–810.
- Ramesh Attinti, Kirk Barrett R., Rupali Datta, Dibyendu Sarkar. 2017. Ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) enhances phytoextraction of lead by vetiver grass from contaminated residential soils in a panel study in the field. *Environmental Pollution*, 225: 524-533.
- Ramirez-Andreotta MD, Brusseau ML, Artiola JF, Maier RM. 2013. A greenhouse and field-based study to determine the accumulation of arsenic in common homegrown vegetables grown in mining-affected soils. *Science of the Total Environment* 443, 299–306.
- Rascol O. 2011. Le découpage en unités urbaines de 2010.
- Reddy KR, De Laune RD. 2008. *Biogeochemistry of Wetlands: Science and Applications*. Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton/London, New York.
- Remon E. 2006. Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. *Université Jean Monnet*, 166.
- Ren YY, Wang XL, Zhang SQ. 2017. Influence of spatial arrangement in maize-soybean intercropping on root growth and water use efficiency. *Plant and Soil* 415: 131–144.
- Roba C, Roșu C, Piștean I, Ozunu A & Baciuc C. 2016. Heavy metal content in vegetables and

- fruits cultivated in Baia Mare mining area (Romania) and health risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(7), 6062–6073.
- Robert Hänsch and Ralf R Mendel. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Plant Biology*, 12:259–266.
- Robert M et Juste C. 1999. Dynamique des éléments traces de l'écosystème sol. In Club CRIN Environnement et Ministère de l'environnement. Spéciation des métaux dans le sol. Paris: CRIN. 105 p.
- Robinson Brett H, Gary Banuelos, Hector Conesa M. 2009. The phytomanagement of trace elements in soil. *Critical Reviews in plant Science*. 28: 240-266.
- Robinson B H, Anderson CW. N & Dickinson N M. 2015. Phytoextraction: Where's the action? *Journal of Geochemical Exploration*, 151, 34–40.
- Rulkens W H, Tichy R, Grotenhuis JTC. 1998. Remediation of polluted soil and sediment: perspectives and failures. – *Water Sci. Technol.* 37; 27-35
- Ruttens A, Adriaensen K, Meers E, De Vocht A, Gebelein W, Carleer R, Mench M and Vangronsveld J. 2010. Long-term sustainability of metal immobilization by soil amendments: Cyclonic ashes versus lime addition. *Environ. Pollut.* 158: 1428-1434.
- Saad, R., Kobaissi, A., Amiaudc, B., Ruelle, J., Benizri, E., 2018. Changes in physicochemical characteristics of a serpentine soil and in root architecture of a hyperaccumulator plant cropped with a legume. *J. Soil Sediment.* 18, 1994-2007.
- Sabeen M, Mahmood Q, Irshad M, Fareed I, Khan A, Ullah F, Hussain J, Hayat Y, Tabassum S. 2013. Cadmium phytoremediation by *Arundo donax* L. from contaminated soil and water. *Bio Med Res.*
- Sakakibara M, Ohmori Y, Ha N T H, Sano S & Sera K. 2011. Phytoremediation of heavy metal-contaminated water and sediment by *Eleocharis acicularis*. *Clean - Soil, Air, Water*, 39(8), 735–741.
- Saiyong Zhu, Xinwang Ma, Rui Guo, Shiwei Ai, Bailin Liu, Wenya Zhang and Yingmei Zhang. 2016. A field study on heavy metals phytoattenuation potential of monocropping and intercropping of maize and/or legumes in weakly alkaline soils. *International Journal of Phytoremediation*, 1014-1021.
- Scandalios JC. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology* 101, 7-12.
- Salt D E, Smith R. D & Raskin I. 1998. Phytoremediation.
- Salt D E, Kumar P B A N, Dushenkov S and Raskin I. 1994. Phytoremediation: a



- new technology for the environmental cleanup of toxic metals. In Mahant, P., Pickles, C. and Lu. W.-K. (eds.) Proceedings of the International Symposium on Resource Conservation and Environmental Technologies in Metallurgical Industries. Canadian Institute of Mining, Metallurgy and Petroleum, Quebec. pp. 381-384.
- Saleh Jahanshah, Hossein Ghasemi, Ali Shahriari, Faezeh Alizadeh, Yaaghoob Hosseini. 2017. Phytoremediation Potential of Tomato for Cd and Cr Removal from Polluted Soils. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, Vol:11, No:4
- Samczyński Z, Dybczyński R S, Polkowska-Motrenko H, Chajduk E, Pyszynska M, Danko B, Czarska E, Kulisa K, Doner K, Kalbarczyk P. 2012. Two new reference materials based on tobacco leaves: Certification for over a dozen of toxic and essential elements. *Sci. World J.* 2012, 316380.
- Sanita di Toppi L, Gabrielli R. 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41 : 105-130.
- Säumel I, Kotsyuk I, Hölscher M, Lenkerei C, Weber F, Kowarik I. 2012. How healthy is urban horticulture in high traffic areas? Trace metal concentrations in vegetable crops from plantings within inner city neighbourhoods in Berlin, Germany. *Environmental Pollution* 165, 124–132.
- Schwartz C, Echevarria G, Morel JL. 2003. Phytoextraction of cadmium with *Thlaspi caerulescens*. *Plant and Soil* 249: 27–35.
- Selim Magdi H. 2011. Dynamics and bioavailability of heavy metals in the rootzone. Review 2389. *CRC Press, Boca Raton, FL, USA*.
- Selvam A & Wong J W C. 2009. Cadmium uptake potential of Brassica napus cocropped with Brassica parachinensis and Zea mays. *Journal of Hazardous Materials*, 167(1–3), 170–178.
- Senad MURTIĆ, Ćerima ZAHIROVIĆ, Hamdija ČIVIĆ, Lutvija KARIĆ, Josip JURKOVIĆ. 2018. Uptake of heavy metals by tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and their distribution inside the plant. *Agriculture & Forestry*. 4: 251-261.
- Seregin I V, Shpigun L K & Ivanov V B. 2004. Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology*, 51(4), 525–533.
- Sharma RK, Agrawal M & Marshall F. 2006. Heavy metal contamination in vegetables grown in wastewater irrigated areas of Varanasi, India. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 77(2), 312–318.

- Sharma RK, Agrawala M, Marshall F. 2007. Heavy metal contamination of soil and vegetables in suburban areas of Varanasi, India. *Ecotoxicol Environ Saf* 66:258–266
- Shekar CC, Sammaiah D, Rambabu M & Reddy K. J. 2011. Effect of cadmium on tomato growth and yield attributes. *J. Microbiol. Biotech. Res.*, 1(3), 109–112.
- Shengxiang Yang, Jianbing Cao, Fengmei Li, Xizhu Peng, Qingjing Peng, Zhihui Yang and Liyuan Chai. 2016. Field evaluation of the effectiveness of three industrial by-products as organic amendments for phytostabilization of Pb/Zn mine tailings. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 1-30.
- Shenker M, Plessner OE and Tel-Or E. 2004. Manganese nutrition effects on tomato growth, chlorophyll concentration, and superoxide dismutase activity. *Journal of Plant Physiology*, vol. 161, no. 2, pp. 197–202.
- Sheoran V, Sheoran A S, Poonia P. 2011. Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: A review. *Crit Rev Environ Sci Technol*. 41: 168–214.
- Sillanpää M, Oikari A. 1996. Assessing the impact of complexation by EDTA and DTPA on heavy metal toxicity using microtox bioassay. *Chemosphere* 32: 1485–1497.
- Singh DP and Sing S. 1987. Action of heavy metals on hill activity and evolution *Anacystis nidulans*. *Plant Physiol*. 83: 12-14.
- Singh OV, Labana S, Pandey G, Budhiraja R, and Jain RK. 2003. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 61, 405-412.
- Singh S., Sinha S. 2005. Accumulation of metals and its effects in Brassica juncea L. grown on various amendment of tannery waste. *Ecotox. Environ. Safety* 62: 118–127.
- Singh A, Kumar R, Agrawal M, Marshall FM. 2010. Health risk assessment of heavy metals via dietary intake of foodstuffs from the wastewater irrigated site of a dry tropical area of India. *Food and Chemical Toxicology* 48, 611–619.
- Smit J, Nasr J, Ratta A. 1996. Urban Agriculture: Food, Jobs and Sustainable Cities, Publication Series for Habitat II, Volume One. United Nations Development Programme, New York.
- Smith SE and Read DJ. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. Academic press. San Diego. Calif.
- Sobukola OP, Dairo OU, Sanni LO, Odunewu A V, Fafiolu BO. 2007. Thin layer drying process of some leafy vegetables under open sun. *Food Science and Technology International* 13, 35–40.
- Sogreah. 2007. Bilan des flux de contaminants entrant sur les sols agricoles de France

- métropolitaine. Etude réalisée pour le compte de l'ADEME par SOGREAH.
- Song N, Wang F, Ma Y, Tang S. 2015. Using DGT to Assess Cadmium Bioavailability to Ryegrass as Influenced by Soil Properties. *Pedosphere* 25, 825–833.
- Song Y, Ammami MT, Benamar A, Mezazigh S, Wang H. 2016. Effect of EDTA, EDDS, NTA and citric acid on electrokinetic remediation of As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn contaminated dredged marine sediment. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 10577–10586.
- Sridhara Chary N, Kamala CT, Samuel Suman Raj D. 2008. Assessing risk of heavy metals from consuming food grown on sewage irrigated soils and food chain transfer. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 69, 513–524.
- Stanislawska-Glubiak E, Korzeniowska J, Kocon A. 2015. Effect of peat on the accumulation and translocation of heavy metals by maize grown in contaminated soils. *Environ Sci Pollut Res* 22:4706– 4714.
- Stasinou S, Zabetakis I. 2013. The uptake of nickel and chromium from irrigation water by potatoes, carrots and onions. *Ecotoxicol Environ Safety* 91:122–128.
- Stengel P et Gelin S. 1998. *Le sol : interface fragile*, Paris : INRA éditions, 214 p
- Stéphane Mombo. 2016. Transferts des métaux et métalloïdes dans le système sol-plante-atmosphère: mécanismes biogéochimiques et conséquences environnement-santé. Thèse de doctorat, Université de Toulouse.
- Stravinskienė V & Račaitė M. 2014. Impact of Cadmium and Zinc on the Growth of White Clover ( *Trifolium repens* L .) Shoots and Roots. *Pol. Environ. Stud.* 23(4), 1355–1359.
- Sun Y, Zhou Q, Xu Y, Wang L, Liang X. 2011. The role of EDTA on cadmium phytoextraction in a cadmium-hyperaccumulator *Rorippa globosa*. *J. Environ. Chem. Ecotoxicol* 3, 45–51.
- Sun Z, Chen J. 2018. Risk Assessment of Potentially Toxic Elements ( PTEs ) Pollution at a Rural Industrial Wasteland in an Abandoned Metallurgy Factory in North China. *Int J environmental research and Public Health* .1-16
- Surarla S, Medina F, McCutcheon SC. 2002. Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecol Eng* 18: 647-658.
- Suresh B, Ravishankar GA. 2004. Phytoremediation - An novel and promising approach for environmental clean-up. *Cri. Rev. Biotechnology.* 24:97-124.
- Taiz Lincoln and Zeige Eduardo. 2003. *Plant Physiology's Best Paper Award. Plant Physiology* (Vol. 1).

- Tandy S, Schulin R & Nowack B. 2006. The influence of EDDS on the uptake of heavy metals in hydroponically grown sunflowers. *Chemosphere*, 62(9), 1454–1463.
- Tang YT, Deng T.H.B, Wu QH, Wang SZ, Qiu R.L, Wei Bin Z, Guo XF, Wu QT, Lei M, Chen Bin T, Echevarria G, Sterckeman T, Simonnot MO, Morel JL. 2012. Designing Cropping Systems for Metal-Contaminated Sites: A Review. *Pedosphere* 22, 470–488.
- Tang Yi, He Juan, Yu Xuena, Xie Yongdong, Lin Lijin, Sun Guochao, Li Huanxiu, Liao Mingan, Liang Dong, Xia Hui, Wang Xun, Zhang Jing, LIU Zejing, Tu Lihua and Liu Li. 2017. Intercropping with *Solanum nigrum* and *Solanum photeinocarpum* from Two Ecoclimatic Regions Promotes Growth and Reduces Cadmium Uptake of Eggplant Seedlings. *Pedosphere* 27 (3): 638-644.
- Tangahu BV, Rozaimah S, Abdullah S, Basri H, Idris M, Anuar N, Mukhlisin M. 2011. A Review on Heavy Metals ( As , Pb , and Hg ) Uptake by Plants through Phytoremediation . *Int J Chemical Engineering*, 31p
- Tatiana Kirpichtchikova. 2010. Phytoremediation par Jardins Filtrants d' un sol pollué par des métaux lourds : Approche de la phytoremediation dans des casiers végétalisés par des plantes de milieux humides et étude des mécanismes de remobilisation/immobilisation du zinc et du cuivre. thèse de doctorat, université Joseph Fourier-Grenoble I.
- Temperton VM, Mwangi PN, Scherer-Lorenzen M, Schmid B, Buchmann N. 2007. Positive interactions between nitrogen-fixing legumes and four different neighbouring species in a biodiversity experiment. *Oecologia* 151, 190-205.
- Thi My Dung Huynh . 2009. Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ ver de terre/ microflore tellurique. Thèse de doctorat, Université Paris Est.
- 352
- Tong Y P, Kneer R & ZhuY G. 2004. Vacuolar compartmentalization: A second-generation approach to engineering plants for phytoremediation. *Trends in Plant Science*, 9(1), 7–9.
- Tremel-Schaub A & Feix I. 2005. Contaminations des sols - Transferts des sols vers les plantes. Editions ADEME.
- Türkdoğan MK, Kilicel F, Kara K, Tuncer I, Uygan I. 2003. Heavy metals in soil, vegetables and fruits in the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13: 175–179.
- UBA. 2015. Register of Contaminated Sites in Germany–federal Survey, Umweltbundesant: based on data pro-vided by all federal states; reference date 24.08.2015.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division, 2018. The World’s Cities in 2018 - Data Booklet (ST/ESA/ SER.A/417).

- Vamerali T, Bandiera M, Mosca G. 2010. Field crops for phytoremediation of metalcontaminated land: A review. *Environ Chem Lett.* 8: 1–17.
- Van-Camp L, Bujarrabal B, Gentile AR, Jones RJA, Montanarella L, Olazabal C and Selvaradjou SK. 2004. Reports of the technical working groups established under the thematic strategy for soil protection, EUR 21319 EN/4, p 872. Office of Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Vangronsveld J, Herzig R, Weyens N, Boulet J, Adriaensen K, Ruttens A. 2009. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: Lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(7), 765–794.
- Van Kessel C, Hartley C. 2000. Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? *Field Crop Res.* 65, 165–181
- Van Nevel L, Mertens J, Oorts K & Verheyen K. 2007. Phytoextraction of metals from soils: How far from practice? *Environmental Pollution*, 150(1), 34–40.
- Vanobberghen F. 2010. La phytoremédiation en Wallonie : Evaluation du potentiel d'assainissement des sols contaminés en métaux lourds . 2009–2010.
- Vernay P, Gauthier-Moussard C, Hitmi A. 2007. Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. *Chemosphere* 68: 1563–1575.
- Veron J. 2007. La moitié de la population mondiale vit en ville, *Population & Sociétés*, 435, p. 1-4.
- Vishnoi S R & Srivastava PN. 2008. Phytoremediation - Green for environmental clean. *Tatal2007: The 12th World Lake Conference*, 342005, 1016–1021.
- Wan X, Lei M, Chen T, Yang J. 2017. Intercropped *Pteris vittata* L. and *Morus alba* L. presents a safe utilization mode for arsenic-contaminated soil. *Science of the Total Environment* 579, 1467–1475.
- Wang X, Bai J, Wang J, Le S, Wang M, Zhao Y. 2019. Variations in cadmium accumulation and distribution among different oilseed rape cultivars in Chengdu Plain in China. *Environ. Sci. Pollut. Res.*
- Sifan Wang, Yong Liu, Khalil Kariman, Jialin Li, Huihua Zhang, Fangbai Li, Yinglong Chen, Chongjian Ma, Chuanping Liu, Yuzhen Yuan, Zhiqiang Zhu and Zed Rengel. 2021. Co-Cropping Indian Mustard and Silage Maize for Phytoremediation of a Cadmium-Contaminated Acid Paddy Soil Amended with Peat. *Toxics*.
- Wang A, Luo C, Yang R, Chen Y, Shen Z, Li X. 2012. Metal leaching along soil profiles

- after the EDDS application - A field study. *Environmental Pollution* 164: 204–210.
- Wang J X, Zu Y Q, Li Y, Zhan F D, Qin L, Yang J, Fu Z X. 2011. Effects of maize and vegetable intercropping systems on accumulation of P, Cu and Cd in plants. *J Agro-Environ Sci (in Chinese)*. 30(11): 2168-2173.
- Wang K, Huang H, Zhu Z, Li T, He Z, Yang X & Alva A. 2013. Phytoextraction of Metals and Rhizoremediation of PAHs in Co-Contaminated Soil by Co-Planting of *Sedum Alfredii* with Ryegrass (*Lolium Perenne*) or Castor (*Ricinus Communis*). *International Journal of Phytoremediation*, 15(3), 283–298.
- Wang SQ, Wei SH, Ji DD, Bai JY. 2015. Co-planting Cd contaminated field using hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. through interplant with low accumulation welsh onion. *Int. J. Phytoremediation* 17, 879–884.
- Wang M, Zou J, Duan X., Jiang W and Liu D. 2007. Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zeamays L.*),” *Bioresource Technology*, vol. 98, no. 1, pp. 82–88.
- Wang G, Su M Y, Chen Y H, Lin F F, Luo D, Gao S F. 2006. Transfer characteristics of cadmium and lead from soil to the edible parts of six vegetable species in southeastern China. *Environ. Pollut.* 144, 127– 135.
- Wang X, Sato T, Xing B & Tao S. 2005. Health risks of heavy metals to the general public in Tianjin, China via consumption of vegetables and fish. *Science of the Total Environment*, 350, 28–37.
- Warming M, Hansen M G, Holm P E, Magid J, Hansen T H & Trapp S. 2015. Does intake of trace elements through urban gardening in Copenhagen pose a risk to human health? *Environmental Pollution*, 202, 17–23.
- Waterlot C, Bidar G, Pelfrene A *et al.*, 2013. Contamination, fractionation and availability of metals in urban soils in the vicinity of former lead and zinc smelters, France. *Pedosphere* 23:143–159.
- Wei, R., Guo, Q., Wen, H., Liu, C., Yang, J., Peters, M., Hu, J., Zhu, G., Zhang, H., Tian, L., Han, X., Ma, J., Zhu, C., Wan, Y., 2016. Fractionation of stable cadmium isotopes in the cadmium tolerant *Ricinus communis* and hyperaccumulator *Solanum nigrum*. *Sci. Rep.* 6
- Whiting SN, Leake JR, McGrath SP, Baker AJM. 2001. Hyperaccumulation of Zn by *Thlaspi caerulescens* can ameliorate Zn toxicity in the rhizosphere of cocropped *Thlaspi arvense*. *Environmental Science and Technology* 35: 3237–3241.
- Wiche, O., Szekely, B., Kummer, N.-A., Moschner, C., Heilmeyer, H., 2016. Effects of

- intercropping of oat ( *Avena sativa* L.) with white lupin ( *Lupinus albus* L.) on the mobility of target elements for phytoremediation and phytomining in soil solution. *Int. J. Phytoremediation* 18, 900–907
- William G. Hopkins. 2003. *Physiologie Végétale*. Editions De Boeck Université, Bruxelles.
- Wilkins DA. 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *The New Phytologist*, 80: 623-633.
- Wong MH. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50, 775–780.
- Wong C S C, Li X & Thornton I. 2006. Urban environmental geochemistry of trace metals. *Environmental Pollution*, 142, 1–16.
- Wong, J.W.C., Li, K.L., Zhou, L.X., Selvam, A., 2007. The sorption of Cd and Zn by different soils in the presence of dissolved organic matter from sludge. *Geoderma*. 137, 310-317.
- Woolhouse HW. 1983. Toxicity and Tolerance in the Responses of Plants to Metals. In: Long, O.L. , Nobel , P.S. , Osmond , C.B. and Ziegler. *Physiologica plantecology III .Encyclopedia of plant physiology III* , pp.245-300. New series Vil. 12C Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Wuana RA, Okieimen F.E. 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *ISRN Ecology* 2011, 1–20.
- Wu Q T, Wei ZB & Ouyang Y. 2007. Phytoextraction of metal-contaminated soil by *Sedum alfredii* H: Effects of chelator and co-planting. *Water, Air, and Soil Pollution*, 180(1–4), 131–139.
- Wu C H, Chen X, Tang J J. 2005. Lead accumulation in weed communities with various species. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 36, 1891-1902
- Wu Q, Hei L, Wong JWC, Schwartz C, Morel J. 2007. Co-cropping for phyto-separation of zinc and potassium from sewage sludge. *Chemosphere*, 68, 1954–1960.
- Wu H J, Li L, Zhang F S. 2003. The influence of interspecific interactions on Cd uptake by rice and wheat intercropping. *Review China Agri Sci Technol* (in Chinese). 5: 43-47.
- Wu Y, Hendershot WH. 2010. The effect of calcium and pH on nickel accumulation in and rhizotoxicity to pea ( *Pisum sativum* L .) root – empirical relationships and modeling. *Environmental Pollution* 158, 1850–1856.
- Wu Caifang, Ji Liu, Liu Yang, Jing Sun and Lijin Lin. 2019. Effects of intercropping with *Vigna umbellata* and *Vigna radiata* on cadmium accumulation of *Cyphomandra betacea*

- seedlings. *Earth and Environ Sci.* 233
- Xia H, Liang D, Chen F, Liao M, Lin L, Tang Y, Lv X, Li H, Wang, Z, Wang X, Wang J, Liu L, Ren W. 2018. Effects of mutual intercropping on cadmium accumulation by the accumulator plants *Conyza canadensis*, *Cardamine hirsuta*, and *Cerastium glomeratum*, *Int. J. Phytorem.* 20, 855-861.
- Xiao Y B, Li L, Zhang F S. 2005. The interspecific nitrogen facilitation and the subsequent nitrogen transfer between the intercropped wheat and faba bean. *Sci Agri Sin* (in Chinese). 38(5): 965-973.
- Xiaomei L, Qitang W, Banks MK. 2005. Effect of simultaneous establishment of *Sedum alfredii* and *Zea mays* on heavy metal accumulation in plants. *International Journal of Phytoremediation* 7, 43–53.
- Xu J and Thornton I. 1985. Arsenic in garden soils and vegetable crops in Cornwall, England: implications for human health, *Environ. Geochem. Health* 7: 131–133.
- Xu D, Gao B, Chen S, Peng W, Zhang M, Qu X, Gao L, Li Y. 2019. Release risk assessment of trace metals in urban soils using in-situ DGT and DIFS model. *Sci. Total Environ.* 694, 133624.
- Xu, W., Liu, D., Wu, F., Liu, S., 2015. Root exudates of wheat are involved in suppression of *Fusarium wilt* in watermelon in watermelon-wheat companion cropping. *Eur. J. Plant Pathol.* 141, 209–216.
- Environ. 694, 133624.
- Yang J, Yang J & Huang J. 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.
- Yang L, Luo C, Liu Y, Quan L, Chen Y, Shen Z. 2013. Residual effects of EDDS leachates on plants during EDDS-assisted phytoremediation of copper contaminated soil. *Science of the Total Environment* 444: 263–270.
- Yang X, Yang T, Li J, Yang Z, He L, Lu F Meng. 2006. Zinc compartmentation in root, transport into xylem, and absorption into leaf cells in the hyperaccumulating species of *Sedum alfredii* Hance. *Planta*, 224, pp. 185-195.
- Yang R Y, Tang J J, Yang Y S, Chen X. 2007. Invasive and non-invasive plants differ in response to soil heavy metal lead. *Bot. Stud.* 48, 453-458.
- Yang, S., Cao, J., Li, F., Peng, X., Peng, Q., Yang, Z., Chai, L., 2016. Field evaluation of the effectiveness of three industrial by-products as organic amendments for phytostabilization of Pb/Zn mine tailings. *Environ. Sci. Process. Impacts.* 18, 95-103.



- Yan-ping Zhao, Jin-li Cui, Ting-shan Chan, Ya-hua Chen, Xiang-dong Li. 2020. Mechanistic insight into the interactions of EDDS with copper in the rhizosphere of polluted soils. *Environmental Pollution*. 267: 115453.
- Yoon J, Cao X, Zhou Q, Ma LQ. 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment* 368, 456–464.
- Yourtchi MS and Bayat H R. 2013. Effect of cadmium toxicity on growth, cadmium accumulation and macronutrient content of durum wheat (Dena CV.),” *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, vol. 6, no. 15, pp. 1099–1103.
- Yu L, Zhu J, Huang Q, Su D, Jiang R, Li H. 2014. Application of a rotation system to oilseed rape and rice fields in Cd-contaminated agricultural land to ensure food safety. *Ecotox. Environ. Safe.* 108, 287-293.
- Yves Coïc et Marcele Coppenet. 1989. Les oligoéléments en agriculture et élevage, Edition : 1ère édition.144 p.
- Zalewsk M, Nogalska A. 2014. Phytoextraction potential of sunflower and white mustard plants in zinc-contaminated soil. *Chilean journal of agricultural research* 74: 485–489.
- Zeng Z.H. Guo X.Y, Xiao C, Peng W.L, Feng L.Q, Xin Z. Xu. 2019. Phytoextraction potential of *Pteris vittata* L. co-planted with woody species for As, Cd, Pb and Zn in contaminated soil. *Sci. Total Environ.*, 650 (2019), pp. 594-603
- Zeza A, Tasciotti L. 2010. Urban agriculture, poverty, and food security: Empirical evidence from a sample of developing countries. *Food Policy* 35, 265–273.
- Zhang H, Davison W. 2000. Direct in situ measurements of labile inorganic and organically bound metal species in synthetic solutions and natural waters using diffusive gradients in thin films. *Analytical Chemistry* 72, 4447–4457.
- Zhang F, Li L. 2003. Using competitive and facilitative interactions in intercropping systems enhances crop productivity and nutrient-use efficiency. *Plant and Soil* 248: 305–312.
- Zhang M K, Liu ZY, and Wang H. 2010. Use of single extraction methods to predict bioavailability of heavy metals in polluted soils to rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, vol. 41, no. 7, pp. 820–831.
- Zhao XL, Masaihiko S. 2007. Amelioration of cadmium polluted paddy soils by porous hydrated calcium silicate. *Water, Air, and Soil Pollution* 183, 309–315.
- Zhao Ye, Ge Mao, Hu Hongxia and Li Gao. 2015. Effects of EDTA and EDDS on Heavy Metal. Activation and Accumulation of Metals by Soybean in Alkaline Soil. *Soil and Sediment Contamination* 24: 353-367.

- Zimmer D, Baum C, Leinweber P, Hrynkiewicz K, Meissner R. 2009. Associated bacteria increase the phytoremediation of cadmium and zinc from a metal-contaminated soil by mycorrhizal willows. *Int. J. Phytorem.* 11, 200-213.
- Zribi K, Nouairi I, Slama I, Talbi-Zribi O & Mhadhbi H. 2015. Medicago sativa - Sinorhizobium meliloti Symbiosis Promotes the Bioaccumulation of Zinc in Nodulated Roots. *International Journal of Phytoremediation*, 17(1), 49–55.
- Zu Y, Qin L, Zhan F, Wu J, Li Y, Chen J, Wang J, Hu W. 2017. Effects of Intercropping of Sonchus asper and Vicia faba on Plant Cadmium Accumulation and Root Responses. *Pedosphere*.