



Phytoremédiation des métaux traces en zone intertidale : potentiel des herbiers marins de zostère

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en océanographie

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences

PAR

© CLOÉ FALCOZ

Août 2025

Composition du jury :

Christian Nozais, président du jury, Université du Québec à Rimouski

Richard Saint-Louis, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Mathieu Cusson, codirecteur de recherche, Université du Québec à Chicoutimi

Philippe Juneau, examinateur externe, Université du Québec à Montréal

Dépôt initial le 30 avril 2025

Dépôt final le 15 août 2025

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

« Le véritable voyage, ce n'est pas de parcourir le désert ou de franchir de grandes distances sous-marines, c'est de parvenir en un point exceptionnel où la saveur de l'instant baigne tous les contours de la vie intérieure »

Antoine de Saint-Exupéry

"Nous avons prouvé que les femmes pouvaient être aussi bonnes que les hommes en science, voire meilleures."

Margaret Hamilton

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à adresser mes plus sincères remerciements à mon directeur. Merci Richard, pour ta confiance, tes encouragements, ta bienveillance et ton écoute. Tu m'as transmis le goût de la recherche, non pas pour la reconnaissance, mais pour le savoir et le plaisir d'apprendre. Tu as toujours eu à cœur d'accorder une attention particulière à la santé mentale et au bien-être de tes étudiant·es. Je me souviens notamment de ce moment où tu m'as encouragée à faire une pause lors d'une période intense, en me rappelant que « *si tu n'es plus heureuse, ça ne sert à rien, ce n'est pas le but* ». Cette phrase m'a marquée et m'a fait comprendre que l'épanouissement personnel doit primer sur la performance. Tu as été un modèle inspirant, me donnant envie de suivre cette voie et d'envisager une carrière en recherche. Je suis profondément reconnaissante d'avoir eu la chance de t'avoir comme mentor.

Ensuite, un énorme merci à Mathieu, mon codirecteur, qui a su, avec une infinie patience et malgré la distance, m'aider à découvrir la vie dans les herbiers marins et leur biodiversité, m'encourager et me donner plus confiance en mes capacités de rédaction en français comme en anglais et surtout, qui a su m'aider à mieux comprendre ce monde obscur que sont les statistiques. Merci pour ton soutien et tes encouragements.

Merci aux professionnels et professionnelles de recherche, en particulier à Marie-Eve, Steeven, David et Catherine, pour votre aide précieuse en laboratoire et avec les appareils d'analyse. Merci pour votre temps et votre patience, votre savoir et vos bons conseils n'ont pas d'égal.

Merci à Gwenn et Sandrine pour leur aide précieuse durant leur stage à mes côtés. Sans votre présence, votre aide et votre travail consciencieux et appliqué, ma charge de travail aurait été encore plus lourde, et mes étés au laboratoire ou sur le terrain auraient été un peu moins fun et conviviaux.

Je tiens à dire merci du plus profond de mon cœur à ma famille, et plus particulièrement à mes parents et à ma sœur, Gaëlle. Dès le début de cette aventure québécoise, vous m'avez encouragée à prendre mon envol, à ne jamais me décourager et à persévérer. Vous m'avez offert la plus belle preuve d'amour en me laissant partir vivre cette expérience et m'épanouir loin de vous. Merci pour ce soutien inconditionnel que vous m'offrez chaque jour, dans les bons moments comme dans les plus difficiles. Merci d'avoir décroché le téléphone à n'importe quelle heure du jour et de la nuit pour m'apporter le soutien et le réconfort dont j'avais besoin. Je vous ai toujours senti près de moi malgré la distance, et je suis pleinement consciente et tellement reconnaissante de la chance que j'ai.

J'adresse également mille mercis à mes amies de l'Hexagone, des personnes toujours présentes, encourageantes et à l'écoute. Merci à Marie, Eloïse, Fanny et Oriane, des femmes inspirantes qui, malgré les kilomètres, m'ont soutenue et ont pris l'avion dès qu'elles l'ont pu, me prouvant qu'il faut bien plus qu'un océan pour éteindre notre amitié.

De l'autre côté de l'Atlantique, j'ai également la chance incommensurable d'être entourée de personnes incroyables. Merci à Clara, Sandrine, Florentine, Juliette, Ariane et Elisa, mes premières supportrices dans la joie, le stress, les rires et le doute. Merci à mes amies de l'ISMER, à Chloé, Pauline, Marie-Anne et Rachel, pour vos sourires, votre bonne humeur et votre soutien, vous avez fait de notre bureau une place où il faisait bon travailler et bavarder. Merci à mes coéquipiers de badminton qui m'ont poussé à me dépasser et à ne rien lâcher dans ce beau sport comme dans les études. Merci à toutes ces personnes, et à bien d'autres encore, pour tous ces moments d'écoute, ces fous rires, ces soirées, ces balades, ces soupers, ces souvenirs, ces tournois, ces road trips... En bref, merci de m'avoir offert une deuxième famille et de m'avoir aidé à construire une deuxième maison où il fait bon vivre.

Finalement, une dernière pensée à ma bonne étoile. À toi, mon papi, qui m'as donné le goût du voyage, de l'aventure et de la richesse des rencontres humaines. À toi qui as eu tant de peine à me voir partir loin mais qui, par la suite, était tellement fier de dire à toutes les personnes qui voulaient bien l'entendre que ta petite fille vivait au Canada ! Même si tu es parti trop tôt pour que je puisse t'annoncer mon admission à la maîtrise, merci d'avoir veillé sur moi pendant ces trois années, j'espère que tu es fier de là-haut.

RÉSUMÉ

Depuis des décennies, plusieurs contaminants, en particulier les métaux traces, sont reconnus pour leur toxicité envers les environnements aquatiques. Étant non biodégradables, ils s'accumulent et persistent dans l'environnement, s'accumulant dans les écosystèmes. Les méthodes actuelles de décontamination sont invasives et destructrices pour les écosystèmes. Face à cela, la phytoremédiation, une méthode écologique et prometteuse qui utilise le pouvoir de bioaccumulation des plantes, a prouvé son efficacité pour décontaminer les sols, l'eau et l'air. Bien que de plus en plus utilisée en milieu terrestre, son potentiel a également été démontré en zone côtière, notamment par certaines plantes aquatiques telles que la zostère marine (*Zostera marina* L.), capable de bioaccumuler des contaminants.

L'objectif de mon projet était d'évaluer le potentiel de phytoremédiation de la zostère marine pour l'arsenic, le cadmium et le fer, tout en analysant les impacts sur sa santé et sa capacité à séquestrer le carbone atmosphérique. Pendant quatre semaines, nous avons exposé des plants de zostère à des sédiments contaminés en laboratoire pour déterminer les concentrations maximales de chaque métal pouvant être tolérées et bioaccumulées, sans compromettre la santé de la plante ni sa capacité de séquestration du carbone. Une expérience de transplantation en conditions naturelles, dans la zone intertidale de la baie de Sept-Îles réalisée à l'été 2022, a également permis d'évaluer la résilience de la plante après déplantage et replantage.

Mes résultats ont permis de définir des seuils de contamination maximum pour chaque métal, basés sur les impacts observés sur la santé des plantes et les taux de bioaccumulation. Selon nos concentrations d'exposition, le cadmium et l'arsenic étaient moins limitants que le fer, qui induit des effets marqués dès les premiers niveaux de contamination. Lors de la transplantation en conditions réelles, les plants ont également

montré une bonne survie et un bon développement. La zostère marine est une plante tolérant des concentrations élevées de métaux et présentant une forte résilience.

Mes travaux montrent que *Z. marina* est une candidate idéale pour la phytoremédiation pour des zones modérément affectés, contribuant à la réduction des contaminants dans les sédiments tout en participant au processus de carbone bleu.

Mots clés : phytoremédiation, *Zostera marina*, métaux traces, carbone bleu, contamination environnemental, sédiments marins, environnements côtiers

ABSTRACT

A number of pollutants, particularly trace metals, have been known to be toxic in aquatic environments for decades. Because they are not biodegradable, they accumulate and persist in the environment, building up in ecosystems. Current decontamination methods are invasive and destructive to ecosystems. In response, phytoremediation is a promising ecological method that uses the bioaccumulation potential of plants. It has proven effective in decontaminating soil, water and air. Although increasingly used in terrestrial environments, its potential has also been demonstrated in coastal areas, particularly by certain aquatic plants such as marine eelgrass (*Zostera marina* L.), which are capable of bioaccumulating contaminants.

The aim of my study was to evaluate the phytoremediation potential of eelgrass for arsenic, cadmium and iron, while analysing the impact on its health and ability to sequester atmospheric carbon. We exposed eelgrass plants to contaminated sediments in the laboratory to determine the maximum concentrations of each metal that could be tolerated and bioaccumulated without compromising plant health or carbon sequestration capacity. A transplantation experiment under controlled conditions was also used to assess the resilience of the plant after deplanting and replanting.

My results have enabled us to define maximum contamination thresholds for each metal, based on the observed effects on plant health and bioaccumulation rates. In our concentration ranges, cadmium and arsenic are less limiting than iron, which induces marked effects from the very first levels of contamination. The plants also showed good survival and development when transplanted under field conditions. Marine eelgrass is a plant that can tolerate high concentrations of metals and is very resilient.

My work shows that *Z. marina* is an ideal candidate for phytoremediation in moderately contaminated areas, helping to reduce contaminants in sediments while contributing to the blue carbon process.

Keywords: phytoremediation, *Zostera marina*, traces metals, blue carbon, environmental contamination, marine sediments, coastal environment

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	x
RÉSUMÉ.....	xiv
ABSTRACT	xvi
TABLE DES MATIÈRES	xviii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxii
LISTE DES FIGURES.....	xxiv
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	xxvii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	29
ÉCOSYSTÈMES CÔTIERS ET HERBIERS DE ZOSTÈRE	29
SÉQUESTRATION DU CARBONE ATMOSPHÉRIQUE.....	32
LES MÉTAUX : DES CONTAMINANTS AQUATIQUES RECONNUS	34
LA PHYTOREMÉDIATION	35
LA ZOSTÈRE MARINE COMME ESPÈCE PHYTOREMÉDIATRICE	37
CONTAMINANTS ÉTUDIÉS	38
SUIVI DE LA SANTÉ DES ZOSTÈRES.....	39
OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES	41
CHAPITRE 1 LES HERBIERS MARINS DANS LA PHYTOREMÉDIATION INTERTIDALE : ÉVALUATION DE LA BIOACCUMULATION DES MÉTAUX ET DES IMPACTS SUR LA SANTÉ DE LA PLANTE	43
RÉSUMÉ EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE.....	44
MARINE EELGRASS IN INTERTIDAL PHYTOREMEDIATION: EVALUATING METAL BIOACCUMULATION AND HEALTH	45
ABSTRACT.....	46

INTRODUCTION.....	47
MATERIAL AND METHODS.....	50
1.1.1 Source of sediment	50
1.1.2 Exposure systems	50
1.1.3 Eelgrass collection and exposure.....	52
1.1.4 Measurements of growth	53
1.1.5 Eelgrass tissue metal extraction.....	54
1.1.6 Extraction of labile metals from contaminated sediments	54
1.1.7 Proxies of plant health	55
1.1.8 Statistics treatments	56
RESULTS.....	57
1.1.9 Metals in tissues	57
1.1.10 Relative growth.....	59
1.1.11 Chlorophyll <i>a</i> and <i>b</i> in tissues.....	61
1.1.12 Carbon and nitrogen content in tissues	63
DISCUSSION	66
1.1.13 Arsenic exposure.....	67
1.1.14 Cadmium exposure	68
1.1.15 Iron exposure	68
1.1.16 Concluding remark and phytoremediation potential.....	70
ACKNOWLEDGEMENTS	71
ASSOCIATED CONTENT.....	72
CHAPITRE 2 EXPÉRIENCE DE TRANSPLANTATION EN MILIEUX CONTAMINÉS AFIN DE VÉRIFIER LE POTENTIEL DE PHYTOREMÉDIATION DE LA ZOSTÈRE MARINE	100
MISE EN CONTEXTE	100
OBJECTIF	103
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	103
1.1.17 Méthode de transplantation et de suivi	103
1.1.18 Mesure de la croissance des plants	106
1.1.19 Concentration en métaux dans les tissus de zostère.....	108
1.1.20 Pourcentage en carbone et en azote dans les tissus de zostère	109
1.1.21 Teneur en chlorophylles dans les feuilles	109
1.1.22 Traitements statistiques.....	110

RÉSULTATS	110
1.1.23 Croissance des plants.....	110
1.1.24 Concentration en arsenic, cadmium et fer dans les tissus	110
1.1.25 Pourcentage carbone, azote et ratio C/N	114
1.1.26 Concentrations en chlorophylle <i>a</i> et <i>b</i>	115
DISCUSSION	116
CONCLUSION GÉNÉRALE	120
MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE.....	126
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	138

LISTE DES TABLEAUX

Table 1: Average ($\pm$ SE) labile metal concentrations measured in sediments for exposure under controlled conditions (DW).....	52
Table 2: Summary of measured metal concentrations in certified material, expected values, observed results and relative method error (DW)	55
Tableau 3: Concentrations moyennes en arsenic, cadmium et fer présentent dans les sédiments prélevés aux deux sites de transplantation dans la baie de Sept-Îles (mg/kg PS)	104
Tableau 4: Moyenne ($\pm$ SE) des concentrations en métaux mesurées et attendues dans le matériel certifié et l'erreur relative entre les deux mesures (PS)	109
Tableau 5: Moyenne ($\pm$ SE) des pourcentages en carbone et en azote et du ratio C/N au début de la transplantation et après 65 jours au site donneur et receveur (% PS). Les différentes lettres situées au-dessus des moyennes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) pour les feuilles. Les comparaisons sont faites séparément pour les feuilles et les rhizomes.	115
Tableau 6: Moyenne ($\pm$ SE) des concentrations en chlorophylle (Chl) <i>a</i> et <i>b</i> (mg/h PS) et du ratio <i>a/b</i> mesurés dans les feuilles des zostères transplantées dans la baie de Sept-Îles. Les différentes lettres situées au-dessus des moyennes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).	116

LISTE DES FIGURES

- Figure 1: Principales structures morphologiques d’une plante de zostère (*Zostera marina*). La ligne pointillée montre le niveau du sédiment de surface. Adapté de Howarth et al. (2021)..... 30
- Figure 2: Distribution connue des herbiers de zostère dans l'Estuaire et le Golfe du Saint-Laurent (Québec, Canada). Les observations multiples sont représentées par les losanges verts, les observations uniques par les points bleus et les données historiques par les étoiles jaunes. Adapté de Environment and Climate Change Canada (2020). 31
- Figure 3: Schéma conceptuel des stocks et des flux de carbone dans une prairie marine. Adapté de Macreadie et al. (2014)..... 32
- Figure 4: Schéma des principaux mécanismes impliqués dans le processus de phytoremédiation des métaux traces. Adapté de Yadav et al. (2021). La zone brune représente le sol, où ont lieu la phytostabilisation (immobilisation des contaminants) et la phytostimulation (interaction racines-microorganismes). La zone bleue représente l’eau, où se produit la rhizofiltration (absorption des contaminants). Les plantes peuvent également extraire (phytoextraction) ou volatiliser (phytovolatilisation) certains polluants. 36
- Figure 5: Schema of the laboratory exposure system. Each microcosm tube consists of a bottom layer of natural (uncontaminated) sediments and a top layer of contaminated sediments. Six aquatic plants were planted in each tube. Tubes were filled with seawater and the system allows a continuous flow of water through dedicated inlets and outlets..... 53
- Figure 6: Average ($\pm$ SE) values of concentration in eelgrass tissues (leaves and roots: green and brown dots respectively, $\mu\text{g/g DW}$) across enriched treatments levels of (A) arsenic, (B) cadmium and (C) iron in sediments (mg/kg DW). Note the logarithm scale for cadmium. Different letters above averages indicate significant differences ($p < 0.05$). 58
- Figure 7: Average ($\pm$ SE) of eelgrass relative growth across enriched treatments levels of (A) arsenic, (B) cadmium and (C) iron in sediments (mg/kg DW). Note the logarithm scale for cadmium. Different letters above (or associated to) averages indicate significant differences ($p < 0.05$). 60

Figure 8: Average ($\pm$ SE) of leaf chlorophyll <i>a/b</i> ratio across enriched treatment levels of arsenic (A), cadmium (B, scale is logarithmic) and iron (C) in sediments (mg/kg DW). Different letters above averages indicate significant differences ($p < 0.05$).	62
Figure 9: Average ($\pm$ SE) of the percentage of carbon content in leaves (green) and roots (brown) across enriched treatments levels of arsenic (A), cadmium (B, scale is logarithmic) and iron (C) in sediments (mg/kg DW). Different letters above averages indicate significant differences ($p < 0.05$).	65
Figure 10: Carte situant la baie de Sept-Îles, à l'échelle de la province du Québec, site de l'expérience de transplantation.	101
Figure 11: Localisation des sites utilisés pour l'expérience de transplantation de zostère en milieu naturel dans la baie de Sept-Îles. Le site donneur est identifié par le repère jaune et le site receveur par le repère rouge. Les flèches pointent les activités anthropiques présentes dans la baie. Les herbiers marins sont représentés par les zones hachurées. Adapté de la Plateforme cartographique Système Intégré de Gestion de l'Environnement Côtier (SIGEC Web). URL : carto - Serveur CartoVista - Portail Web	102
Figure 12: Photo illustrant la méthode de marquage avec une punaise pour mesurer la croissance des plants transplantés. Les zones marquées seront mesurées après 21 jours (Mathieu Cusson).....	105
Figure 13: Photos montrant les quadrats réalisés avec les plants de zostère marine lors de l'expérience de transplantation (Cloé Falcoz).	106
Figure 14: Illustration des étapes de la méthode du plastochrone (Gaeckle & Short, 2002).....	107
Figure 15: Concentration moyenne ($\pm$ SE) d'arsenic (vert), de cadmium (jaune) et de fer (orange) dans les nouvelles feuilles (A), les rhizomes (B) et les vieilles feuilles (C) des zostères transplantées ($\mu\text{g/g PS}$), en fonction du site (donneur et receveur) et des périodes d'échantillonnages (avant exposition [0j], après 21 jours [21j] et après 65 jours [65j]). Les lettres au-dessus des barres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$).....	113

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

Chl <i>a</i>	Chlorophylle <i>a</i>
Chl <i>b</i>	Chlorophylle <i>b</i>
DW	Dry weight (masse sèche)
EGSL	Estuaire et Golfe du Saint-Laurent
INREST	Institut nordique de recherche en environnement et en santé au travail
PS	Poids secs
SE	Standard error (erreur type)

INTRODUCTION GÉNÉRALE

ÉCOSYSTÈMES CÔTIERS ET HERBIERS DE ZOSTÈRE

Les écosystèmes côtiers de la zone de balancement des marées, sont des environnements riches en biodiversité, abritant à la fois des espèces animales et végétales. Situés à l'interface entre la terre, la mer et l'atmosphère, ils sont influencés par une diversité d'apports, qu'ils soient terrestres (rivières, affluents, rejets anthropiques), atmosphériques (poussières, précipitations) ou marins (courants, marées). Ces milieux présentent une grande diversité à des niveaux taxonomiques élevés ainsi que dans les fonctions écologiques assurées par leurs organismes. Partout dans le monde, les espèces qui les composent varient en fonction des climats et des caractéristiques du milieu. Lorsque les termes « zone côtière » et « zone de marée » sont employés, le public les associe souvent à la mer ou à l'océan, tandis que les fleuves sont fréquemment oubliés. Dans l'estuaire et le golfe du Saint-Laurent (EGSL), l'influence des marées est marquée en raison de leur profondeur et de leur proximité avec l'océan Atlantique (El-Sabh & Murty, 1990; Saucier & Chassé, 2000; Hoitink & Jay, 2016). Cette dynamique façonne des habitats intertidaux où les herbiers de zostère marine occupent une place prépondérante.

Cette plante aquatique angiosperme possède un système racinaire et un rhizome qui s'étend horizontalement dans le sédiment (Figure 1). Principalement représentée par l'espèce *Zostera marina* L. dans l'hémisphère nord, la zostère forme des prairies marines d'une importance écologique considérable (Lyngby & Brix, 1989; Duffy, 2006; MPO, 2009). Dans l'EGSL, la zostère produit des fleurs à partir du mois de juin environ, puis ses feuilles sont en grande partie arrachées par l'action des glaces en hiver et au printemps (Vercaemer et al., 2021).

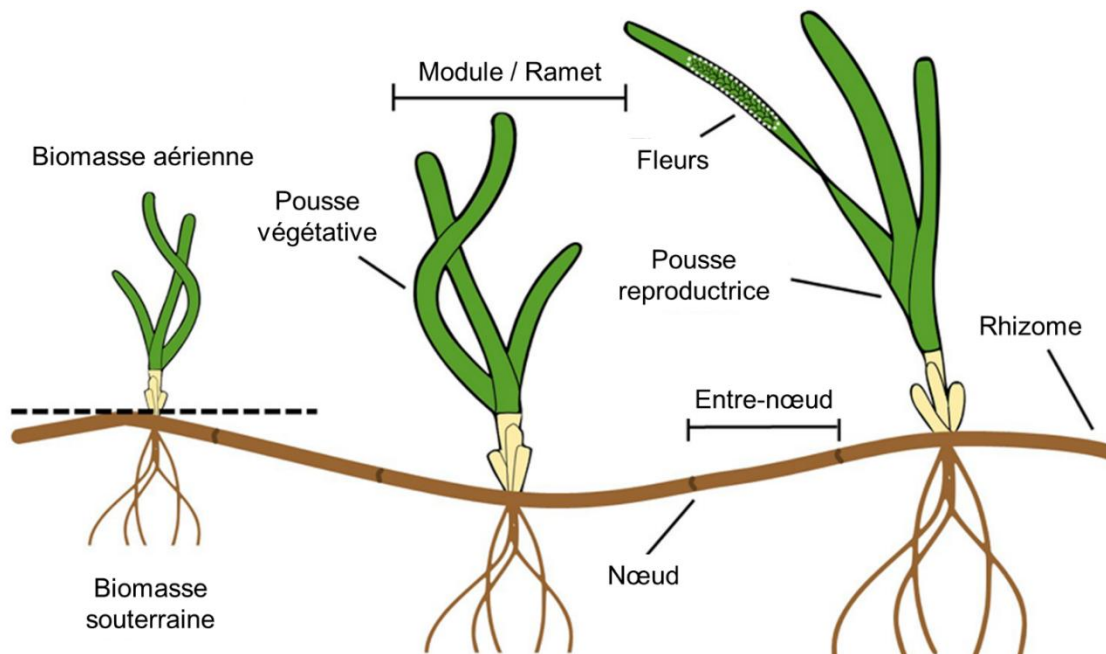


Figure 1: Principales structures morphologiques d'une plante de zostère (*Zostera marina*). La ligne pointillée montre le niveau du sédiment de surface. Adapté de Howarth et al. (2021).

Le long de l'EGSL, les herbiers de zostère représentent une superficie totale connue supérieure à 9 400 hectares avec environ 53 ha dans l'estuaire moyen, 2 277 ha dans l'estuaire maritime et plus de 7 000 ha dans le Golfe (Martel et al., 2009) (Figure 2). Ces herbiers marins sont des refuges essentiels pour la biodiversité, fournissant nourriture et abri à de nombreux organismes. Les herbiers de zostère jouent un rôle crucial dans le soutien de la vie marine. Ils servent de nurseries pour plusieurs espèces de poissons, dont certaines sont à la fois d'intérêt commercial pour la pêche et/ou en péril (Beck et al., 2001; Nellis et al., 2012; Ruesink et al., 2018; Unsworth et al., 2019). En plus de favoriser la diversité biologique locale (Duffy 2006 ; Cimon & Cusson, 2018), ces herbiers contribuent à la santé des écosystèmes en réduisant les populations de bactéries pathogènes qui affectent les invertébrés et les vertébrés, bénéfique non seulement pour la faune marine mais aussi pour la santé humaine (Lamb et al., 2017). Ils fournissent également des services écosystémiques inestimables, comme la stabilisation des sédiments, l'amélioration de la qualité de l'eau, et la séquestration du carbone, aidant ainsi à atténuer les effets du changement climatique (Beck

et al., 2001; Fourqurean et al., 2012; Greiner et al., 2013; Röhr et al., 2018; Ruesink et al., 2018; Unsworth et al., 2019). Leur préservation et leur restauration offrent des solutions écologiques à de nombreuses problématiques environnementales et socio-économiques.

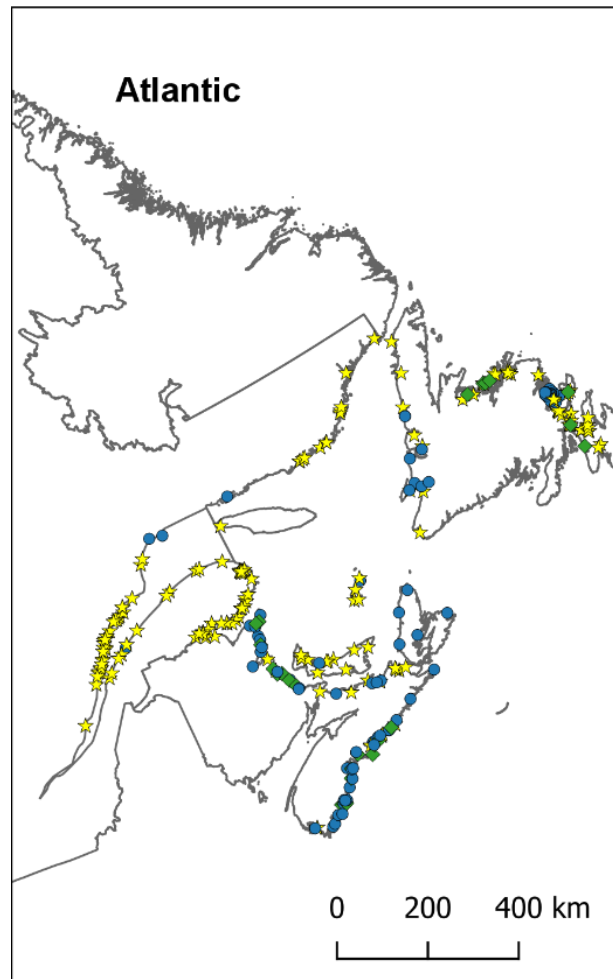


Figure 2: Distribution connue des herbiers de zostère dans l'Estuaire et le Golfe du Saint-Laurent (Québec, Canada). Les observations multiples sont représentées par les losanges verts, les observations uniques par les points bleus et les données historiques par les étoiles jaunes. Adapté de Environment and Climate Change Canada (2020).

SÉQUESTRATION DU CARBONE ATMOSPÉRIQUE

Les herbiers marins sont reconnus pour leur capacité à capter et à séquestrer le dioxyde de carbone (CO_2), contribuant ainsi au processus appelé « carbone bleu » (Siikamäki et al., 2013; Röhr et al., 2018; Lafratta et al., 2023). Ce terme, utilisé pour la première fois en 2009, fait référence au carbone organique capturé et stocké par les océans et les écosystèmes côtiers végétalisés, tels que les marais salés, les mangroves et les herbiers marins (Figure 3) (Macreadie et al., 2014; Pelletier, 2023). Les habitats de zostère peuvent contribuer au carbone bleu qui représente une solution naturelle et économique pour la réduction de la concentration des gaz à effet de serre dans l'atmosphère, tout en apportant des avantages socio-économiques et environnementaux significatifs.

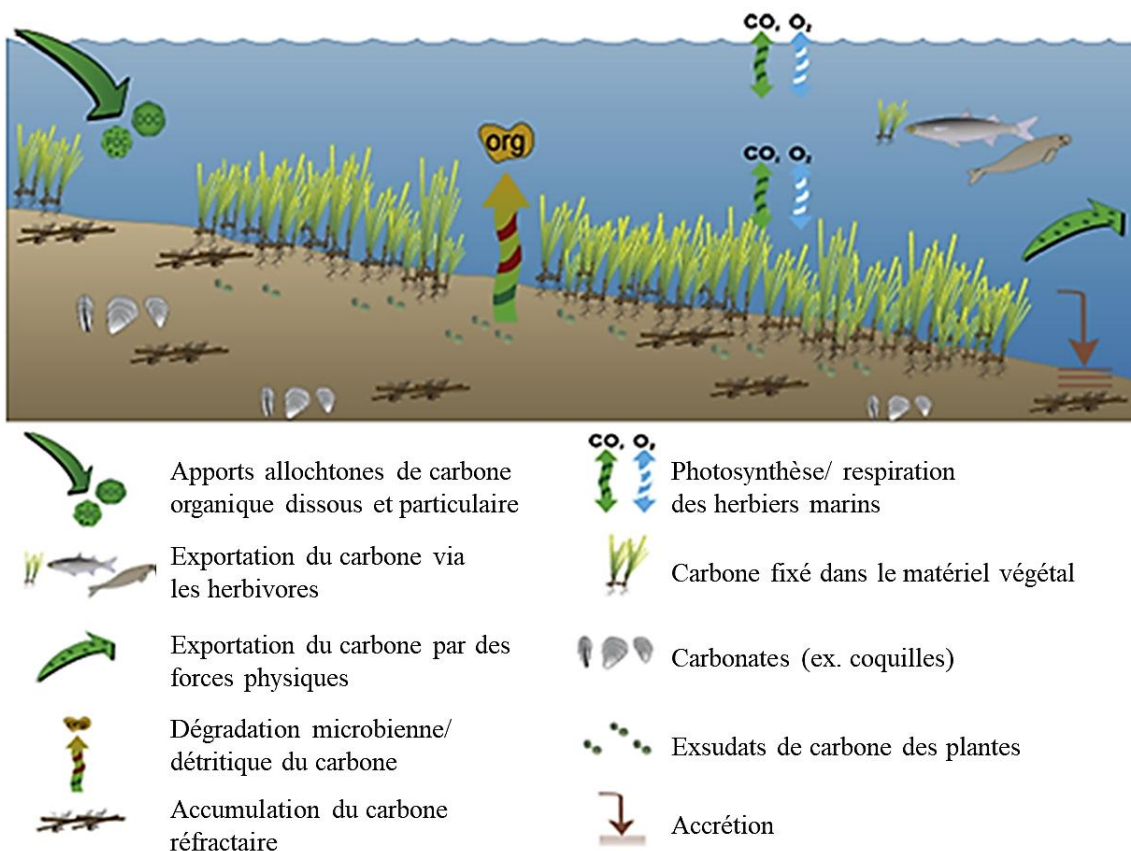


Figure 3: Schéma conceptuel des stocks et des flux de carbone dans une prairie marine. Adapté de Macreadie et al. (2014).

Les herbiers marins de zostère, en particulier, agissent comme de véritables puits de carbone, capables de capturer jusqu'à trois ordres de grandeur de plus de carbone par unité de surface que les écosystèmes terrestres (Macreadie et al., 2014; Röhr et al., 2018). La capacité de stockage des herbiers marins est estimée à 83 000 Mg/km² dans les sédiments, qui constituent le principal réservoir de carbone de ces écosystèmes. À l'échelle mondiale, le stock total de carbone organique des herbiers, incluant la biomasse et les sédiments, est évalué à $19,9 \times 10^9$ Mg (Fourqurean et al., 2012; Macreadie et al., 2014; Röhr et al., 2018). Dans ces écosystèmes, le carbone est stocké sous différentes formes et sur des échelles de temps variables. Les tissus aériens des zostères captent le carbone via la photosynthèse, tandis que les parties souterraines (rhizomes et racines) servent de réservoir temporaire de carbone et de nutriments. La biomasse végétale peut alors agir comme un puits de carbone, mais une fois morte, elle est généralement dégradée par les microorganismes pouvant entraîner un retour du carbone dans la colonne d'eau et/ou dans l'atmosphère. Cependant, si ces tissus sont transportés vers l'océan profond (> 200-300 m), leur dégradation devient extrêmement lente, ce qui permet un stockage stable sur le long terme (Duarte & Krause-Jensen, 2017). D'autre part, lorsque le carbone est enfoui dans les sédiments anoxiques des herbiers marins, sa dégradation est fortement ralentie en raison du manque d'oxygène, ce qui favorise son accumulation sur le long terme et constitue un réservoir de carbone bleu (Macreadie et al., 2014). Le carbone peut être précipité et stocké sous forme de carbonates dans les sédiments, bien que ce processus puisse parfois entraîner une libération de CO₂ (Macreadie et al., 2014). D'autre part, une portion du carbone est assimilée par les bactéries, les microalgues, les macroalgues, ainsi que par les herbivores (Figure 3). Grâce à tous ces processus, les herbiers marins représentent des écosystèmes clés pour la séquestration du carbone offrant des services écosystémiques majeurs. Leur conservation et leur restauration constituent donc un enjeu crucial face aux changements climatiques.

LES MÉTAUX : DES CONTAMINANTS AQUATIQUES RECONNUS

Les écosystèmes côtiers sont considérés comme des réceptacles des contaminations côtières d'origine anthropique (Gibson et al., 2007). Les populations mondiales se sont stratégiquement réparties autour des zones côtières au fil du temps. Cette proximité avec les aires maritimes permet aux zones urbaines, aux entreprises et aux industries de faciliter leurs échanges commerciaux à l'échelle nationale et internationale. De plus en plus d'activités anthropiques se développent le long des côtes marines et fluviales, entraînant l'implantation de grandes zones industrialo-portuaires et de vastes aires urbaines (Barbier et al., 2011; Mehvar et al., 2018; Ferrario et al., 2022). Ces activités anthropiques qui sont présentes sur le littoral exercent une pression croissante sur les écosystèmes côtiers, en raison du relargage de multiples substances polluantes. Qu'il s'agisse de zones urbaines ou industrialo-portuaires, les eaux usées, les poussières industrielles et les déchets sont souvent rejetés dans les écosystèmes avoisinants. Bien que ces rejets soient soumis à des réglementations et doivent être traités avant d'être déversés dans l'environnement, il arrive que les traitements soient insuffisants. Dans le cas de certaines poussières, comme celles issues de minerais, il est même très difficile de limiter leur dispersion. Les écosystèmes côtiers peuvent alors être détériorés et dégradés (Mehvar et al., 2018).

Parmi les contaminants les plus préoccupants de notre époque figurent les métaux traces et les métalloïdes, tels que le mercure, le plomb et l'arsenic. Ces éléments, rejetés par diverses industries telles que les alumineries, les mines et le transport de minerais, sont devenus des polluants aquatiques significatifs et préoccupants (Nagajyoti et al., 2010; Li et al., 2022). Dans les zones côtières, ces contaminants s'accumulent dans les sédiments par agrégation, complexation et/ou précipitation, affectant ainsi les plantes aquatiques et les organismes fouisseurs et benthiques (Salomons et al., 1988; Sharifuzzaman et al., 2016). Leur toxicité, même à faibles concentrations pour certains, est bien documentée, et leur persistance dans l'environnement en font des contaminants particulièrement problématiques (Environnement Canada et al., 2007; Sankhla et al., 2016). Ces deux caractéristiques (toxicité et persistance) favorisent leur accumulation dans les écosystèmes, posant de sérieux risques pour les organismes aquatiques et la santé humaine. En effet, en raison de leur persistance, ils se

bioaccumulent dans les organismes et le long de la chaîne trophique. Les concentrations de contaminants augmentent souvent à chaque niveau trophique, en particulier pour les complexes organométalliques, comme le méthylmercure, posant des risques pour les prédateurs supérieurs, y compris les êtres humains qui peuvent consommer des poissons et fruits de mer contaminés (Salomons et al., 1988; Sankhla et al., 2016; Sharifuzzaman et al., 2016). C'est le phénomène de bioamplification. Pour atténuer les impacts de cette contamination sur la biodiversité, diverses méthodes sont mises en œuvre pour réduire les concentrations de ces contaminants dans les sédiments de surface. Malheureusement, les méthodes actuelles, bien qu'efficaces, sont souvent très dommageables pour les écosystèmes. L'utilisation de grosses machineries, telles que des engins de chantier ou des bateaux de dragage, permet de retirer les sédiments contaminés mais entraîne également la destruction des organismes présents et la remise en suspension des contaminants, compromettant ainsi la biodiversité du milieu (Soetan et al., 2023).

LA PHYTOREMÉDIATION

Pour diminuer la présence de contaminants métalliques en zone intertidale, ainsi que pour protéger et restaurer les écosystèmes côtiers, il est essentiel de développer des stratégies de gestion et de remédiation, c'est-à-dire des techniques visant à atténuer ou éliminer la pollution pour restaurer l'environnement, qui soient moins invasives, plus durables et écologiques. Des nouvelles méthodes se répandent de plus en plus telles que l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices pour la phytoremédiation ou l'application de méthodes bioremédiatives utilisant des micro-organismes pour dégrader ou immobiliser les contaminants (Dabouineau et al., 2005; Robichaud, 2020).

Parmi les nouvelles méthodes de remédiation plus durables et respectueuses des écosystèmes, la phytoremédiation se distingue. Cette technique repose sur la capacité de certaines plantes, qu'elles soient aquatiques ou terrestres, à survivre et se développer dans des environnements contaminés (Lyngby & Brix, 1984; Dabouineau et al., 2005; Li et al., 2023). Ces plantes peuvent accumuler, concentrer, séquestrer, stabiliser, transformer ou dégrader des contaminants spécifiques (Dabouineau et al., 2005). Leur efficacité repose sur deux

propriétés essentielles : une tolérance élevée aux contaminants et une capacité d'accumulation adaptée. Dans le contexte de la phytoremédiation des métaux, trois mécanismes principaux sont impliqués (Dabouineau et al., 2005; Lee et al., 2019; Robichaud, 2020; Yadav et al., 2021) (Figure 4):

1. Phytoextraction : Ce processus consiste à extraire les métaux des sédiments pour les transférer et les accumuler dans les tissus récoltables des plantes.
2. Rhizofiltration : Ce mécanisme vise à réduire la concentration des métaux dans les effluents par absorption via les tissus souterrains des plantes.
3. Phytostabilisation : Ici, les métaux sont accumulés dans les tissus souterrains des plantes, ce qui diminue leur mobilité et leur biodisponibilité dans l'environnement.

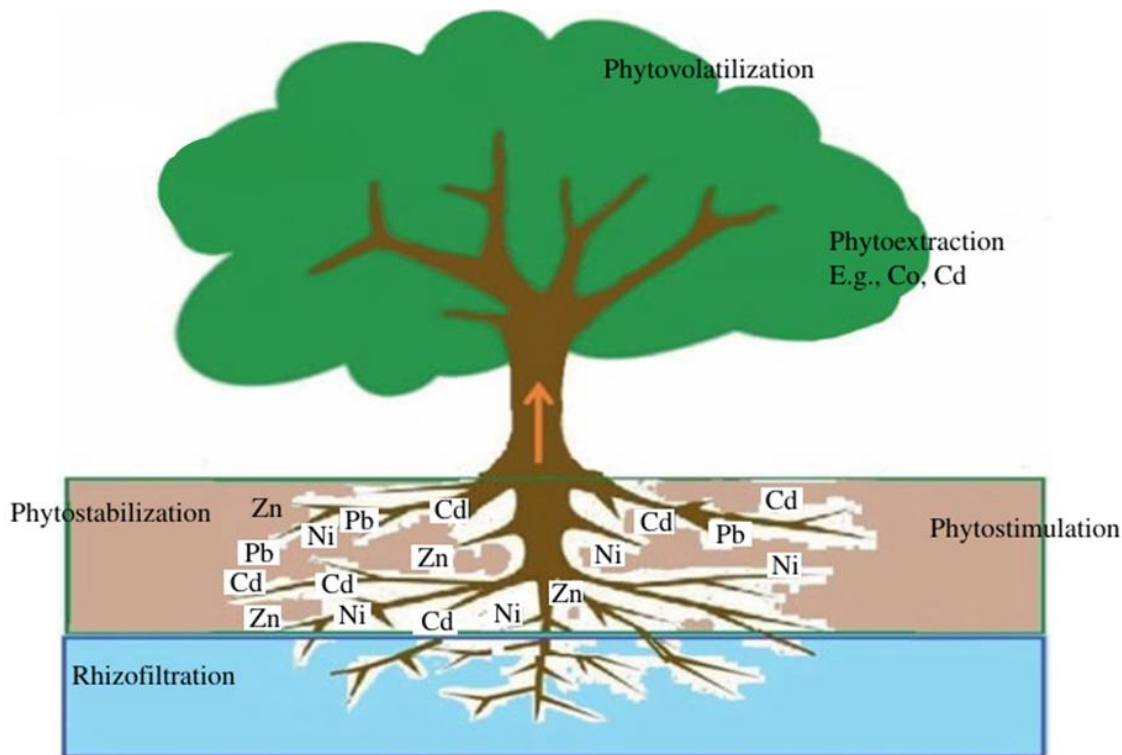


Figure 4: Schéma des principaux mécanismes impliqués dans le processus de phytoremédiation des métaux traces. Adapté de Yadav et al. (2021). La zone brune représente le sol, où ont lieu la phytostabilisation (immobilisation des contaminants) et la phytostimulation (interaction racines-microorganismes). La zone bleue représente l'eau, où se produit la rhizofiltration (absorption des contaminants). Les plantes peuvent également extraire (phytoextraction) ou volatiliser (phytovolatilisation) certains polluants.

L'accumulation et la séquestration des contaminants dans les tissus des plantes peuvent représenter un puits de contaminant, contribuant ainsi à réduire leur présence dans les sédiments. Le but de cette méthode n'est pas nécessairement de retirer l'entièreté des métaux, mais plutôt de diminuer assez les concentrations pour repasser en-dessous des seuils acceptables déterminés, limitant les impacts sur les environnements côtiers. Cependant, il ne faut pas négliger qu'une exposition à des contaminants peut être néfaste voire mortelle pour les plantes utilisées dans le processus de phytoremédiation, ce qui impose de déterminer certaines limites de concentrations.

LA ZOSTÈRE MARINE COMME ESPÈCE PHYTOREMÉDIATRICE

Pour faire de la phytoremédiation en zone côtière le long de l'EGSL, la zostère marine semble être une candidate prometteuse. Tout d'abord, elle est l'une des espèces majeure et dominante des herbiers du fleuve, et cette présence naturelle constitue un premier atout. Ensuite, depuis des décennies, plusieurs études ont démontré sa capacité de sorption via ses tissus aériens et sa tolérance aux métaux (Faraday & Churchill, 1979; Brix et al., 1983; Lyngby & Brix, 1984; Lee et al., 2019; Xu et al., 2024).

Plus récemment, d'autres recherches se sont intéressées à sa présence en milieu contaminé et à la corrélation entre la contamination dans le sédiment et celle dans ses tissus, faisant d'elle une espèce sentinelle de son milieu. Par exemple, Vercaemer (2022) a mis en évidence que les herbiers marins de zostère le long des côtes de la Nouvelle-Écosse (Canada) sont exposés à des concentrations élevées d'arsenic et de mercure, issus des résidus d'activités minières historiques dans la région de Goldboro. Les herbiers situés dans les zones les plus contaminées présentaient des signes de dégradation, notamment une altération de la morphologie des feuilles et des rhizomes. Par ailleurs, les niveaux élevés de contamination détectés dans les sédiments se retrouvaient également dans les tissus des plantes échantillonnées à ces sites, soulignant une interaction directe entre la qualité du substrat et l'état de santé des herbiers marins.

Bien que les recherches à ce sujet se multiplient, quelques zones d'ombre persistent pour l'utilisation optimale de cette méthode dans certaines régions, comme le long de l'EGSL. À notre connaissance, il n'y a que très peu d'études qui se sont intéressées au potentiel de phytoremédiation en zone côtière en milieu subarctique, un climat caractérisé par des étés courts et des hivers longs, froids et neigeux. Dans ces régions où les hivers sont plus longs et rudes, les glaces envahissent les zones côtières, arrachant les tissus aériens des plantes et ne laissant que les parties souterraines (racines et rhizomes) (Prowse, 2001). Ces conditions imposent des contraintes temporelles pour initier le processus de phytoremédiation et pour en assurer le suivi et la fenêtre d'action est réduite par rapport à d'autres sites où les hivers sont plus cléments (Prowse, 2001; Lindenschmidt et al., 2018). Par ailleurs, dans ces environnements où les parties aériennes des plantes sont saisonnièrement absentes, il est particulièrement pertinent d'étudier les concentrations élevées de contaminants dans le sédiment, car les réponses physiologiques et la bioaccumulation dépendent des organes en contact direct avec la contamination. Enfin, bien que la zostère soit une espèce tolérante capable de se développer et de persister dans des zones contaminées (Lee et al., 2019; Xu et al., 2024), il est crucial de connaître ses limites de tolérance. Ces limites permettraient de déterminer dans quelles conditions la phytoremédiation serait efficace et dans quels cas elle ne pourrait pas être utilisée en raison de concentrations trop élevées, impactant considérablement la survie de la plante. Ainsi, il faut mettre en place des mesures simples et révélatrices qui permettent de faire un suivi de la santé général des plants exposés. Ce suivi peut être réalisé en suivant et mesurant des facteurs comme la croissance des plants, les concentrations en pigments chlorophylliens et les pourcentages de carbone et d'azote dans les tissus (Li et al., 2012; Yadav et al., 2015; Zhang et al., 2020; Jiang et al., 2024).

CONTAMINANTS ÉTUDIÉS

Notre étude visant à déterminer le potentiel de phytoremédiation de la zostère marine dans des zones impactées par une contamination aux métaux traces, et étant menée en partenariat avec le port de Sept-Îles et l'Institut nordique de recherche en environnement et en santé au travail (INREST), nous avons choisi nos contaminants en fonction des réalités de

la baie de Sept-Îles. Cette baie, située sur la côte nord du Golfe du Saint-Laurent, abrite des herbiers de zostère marine qui présentent une grande diversité écologique, mais subissent une pression significative en raison des activités anthropiques, incluant une zone urbaine de plus de 20 000 habitants, des infrastructures portuaires majeures et des industries. Pour identifier les métaux les plus pertinents à étudier, nous nous sommes appuyés sur le rapport de l'Observatoire environnemental de la baie de Sept-Îles, qui présente les résultats du suivi de la qualité de l'environnement de cette zone industrialo-portuaire, de 2013 à 2017 (Carrière, 2018). Cette étude a analysé des échantillons de sédiments de surface afin d'évaluer les concentrations en différents métaux et métalloïdes dans la baie. Elle a révélé des niveaux élevés de contamination, notamment en arsenic et en cadmium, deux éléments non essentiels aux organismes vivants et reconnus pour leur forte toxicité sur les écosystèmes marins (Faburé et al., 2022). Elle a également mis en évidence une contamination importante en fer, un métal généralement moins étudié en raison de son rôle essentiel dans les systèmes biologiques. Cependant, les concentrations relevées dans la baie, attribuées à l'exploitation et au transport des minerais extraits plus au nord et transitant via le port de Sept-Îles, sont suffisamment élevées pour justifier son inclusion dans notre étude. Ces trois métaux – arsenic, cadmium et fer – ont donc été retenus comme contaminants métalliques pour étudier le potentiel de phytoremédiation de la zostère marine.

SUIVI DE LA SANTÉ DES ZOSTÈRES

En réponse à une contamination métallique dans les sédiments, plusieurs paramètres pourraient être mesurés afin de suivre l'état santé général de la zostère et d'évaluer la mise en place de stratégies physiologiques face à un stress environnemental. Dans cette étude, les paramètres choisis sont la croissance, les teneurs en chlorophylle *a* et *b* dans les feuilles, ainsi que le contenu en carbone et azote dans les tissus.

Les métaux traces peuvent perturber le métabolisme des chloroplastes, notamment en ralentissant voire inhibant la biosynthèse de la chlorophylle, ou en générant des espèces réactives de l'oxygène susceptible de la dégrader. Une variation des teneurs en pigments chlorophylliens dans les feuilles de zostère peut ainsi refléter un changement de l'état

physiologique de la plante face à des conditions environnementales changées (Liu et al., 2011; Li et al., 2012; Fonte et al., 2023). Un autre impact des métaux traces réside dans l'altération des membranes cellulaires et des activités enzymatiques impliquées dans la fixation du CO₂. Cette perturbation affecte l'utilisation du carbone et de l'azote, ainsi que sa croissance, mettant en évidence des stratégies particulières adoptées par la plante. Une diminution de la croissance constitue un indicateur clair de stress physiologique, traduisant une altération de son métabolisme en réponse à un stress environnemental. Un ratio C/N élevé indique que la plante accumule davantage de carbone (lignine, cellulose) et utilise moins d'azote pour sa production de biomasse et sa croissance. Elle privilégie ainsi une croissance plus lente, en formant des tissus durables. En revanche, un ratio C/N faible implique que la plante utilise davantage d'azote, favorisant ainsi une croissance plus rapide, en produisant par exemple une plus grande quantité de protéines. La proportion de carbone et d'azote dans les plantes est donc étroitement liée à leur croissance, à leur mode de fonctionnement, ainsi qu'aux mécanismes de survie qu'elles mettent en œuvre (Zheng, 2009; Yadav et al., 2015; Zhang et al., 2020). Dès lors, si ces mécanismes physiologiques essentiels sont affectés, cela suggère que la phytoremédiation n'est plus optimale, compromettant ainsi la santé, la survie et les autres services écosystémiques des plantes. Lors d'une exposition aux métaux, ces éléments sont donc de bons indicateurs de la santé des zostères.

OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES

L'objectif général de ce projet de maîtrise est de déterminer le potentiel de phytoremédiation et de séquestration du carbone atmosphérique des herbiers marins de zostère en conditions subarctiques.

Le premier sous-objectif consiste à évaluer la capacité de bioaccumulation de l'arsenic, du cadmium et du fer par la zostère marine exposée à des sédiments contaminés en laboratoire. L'objectif est de déterminer la quantité maximale de métal qui peut être absorbée et concentrée dans les tissus de la plante. L'hypothèse émise est que la quantité de métal captée augmentera proportionnellement à la concentration dans le sédiment jusqu'à atteindre un maximum. Une fois ce maximum atteint, deux scénarios sont envisageables : soit les teneurs en métaux dans les tissus se stabilisent malgré l'augmentation continue des concentrations dans le sédiment, soit elles diminuent, indiquant que la plante ne peut tolérer des niveaux de contamination plus élevés. Il est prévu que la bioaccumulation varie en fonction du métal, avec une accumulation plus élevée du fer, étant donné qu'il s'agit d'un élément essentiel au métabolisme de la zostère, mais une toxicité plus importante du cadmium et de l'arsenic.

Le deuxième sous-objectif vise à déterminer dans quelle mesure la capacité de captation et de séquestration du carbone par les herbiers de zostère est impactée par la présence de métaux, et à identifier la concentration optimale dans le sédiment qui permet de concilier phytoremédiation et séquestration des gaz à effet de serre. L'hypothèse formulée est que le contenu en carbone ne sera pas affecté aux premiers niveaux de contamination, correspondant aux concentrations d'effets occasionnels définies par Environnement Canada et le ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec (Environnement Canada et al., 2007). Toutefois, une diminution du contenu est attendue à

des niveaux de contamination plus élevés, cette tendance étant inversement proportionnelle aux concentrations de métaux dans les tissus.

Le troisième sous-objectif est de déterminer le seuil de contamination au-delà duquel certaines fonctions physiologiques de la plante, tel que la croissance et le contenu en chlorophylles, sont compromis. Pour cela, la croissance des plants ainsi que les teneurs en chlorophylles *a* et *b* dans les feuilles seront mesurés. Il est attendu que ces deux indicateurs ne soient pas ou très peu affectés aux niveaux de contamination inférieurs aux concentrations d'effets occasionnels. En revanche, dépasser ces seuils, les métaux devraient impacter la croissance ainsi que la santé des parties aériennes notamment en dégradant la chlorophylle, particulièrement en présence d'arsenic et de cadmium.

Le quatrième et dernier sous-objectif est de réaliser une transplantation en conditions réelles dans la baie de Sept-Îles. Cette manipulation vise à étudier la survie et l'adaptation de la zostère après une transplantation de son herbier d'origine vers une zone côtière contaminée. L'objectif est de tester l'utilisation de zostères prélevées dans un herbier sain et replantées dans une zone modérément contaminée, ciblée pour la phytoremédiation. L'hypothèse est que la zostère présentera un faible taux de mortalité et une bonne adaptation malgré le changement de milieu. Il est toutefois attendu que les concentrations en métaux dans les tissus diffèrent entre les deux sites en raison de la contamination plus importante des sédiments aux sites transplantés comparativement au site donneur.

En rassemblant toutes les données récoltées, ce projet vise à déterminer les conditions optimales d'utilisation de la zostère marine, pour développer la phytoremédiation comme une méthode durable et respectueuse de l'environnement, et ainsi aider à la décontamination des zones côtières subarctiques.

CHAPITRE 1

LES HERBIERS MARINS DANS LA PHYTOREMÉDIATION INTERTIDALE : ÉVALUATION DE LA BIOACCUMULATION DES MÉTAUX ET DES IMPACTS SUR LA SANTÉ DE LA PLANTE

Cet article, intitulé « *Marine eelgrass in intertidal phytoremediation : evaluating metal bioaccumulation and health impacts* », sera soumis dans la revue *Environnemental Science and Technology*. En tant que première auteure, j'ai contribué à l'essentiel de la recherche sur l'état de la question, au développement de la méthode et à l'exécution des tests de performance. Les professeurs Richard Saint-Louis et Mathieu Cusson, deuxième et troisième auteur, ont fourni l'idée originale, ont aidé à la recherche, au développement des méthodes, à l'exécution des tests de performance ainsi qu'à la révision de l'article. Finalement, l'INREST, sous la direction de Julie Carrière, Ph. D., a également contribué à la conception et à la réalisation du projet.

Les résultats de ces travaux de recherche furent présentés oralement à plusieurs reprises notamment au 27^{ème} colloque Chapitre Saint-Laurent (présentiel, Montréal), au colloque conjoint des réseaux Ecotoq et Ecobim en mai 2023 (présentiel, Québec), à la conférence RE3 en juin 2023 (présentiel, Québec), à la réunion scientifique annuelle de Québec-Océan en février 2024 (présentiel, Rivière-Du-Loup) et au 19^{ème} colloque du réseau Ecobim (présentiel, Banyuls-sur-Mer, France) en mai 2024.

RÉSUMÉ EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE

Dans les zones côtières, les activités anthropiques telles que l'industrie, les ports ou l'agriculture peuvent introduire des contaminants métalliques dans les écosystèmes intertidaux. Le long de l'estuaire et du Golfe du Saint-Laurent, les abondants herbiers de zostère marine (*Zostera marina* L.) peuvent jouer un rôle important dans la régulation des concentrations de métaux dans les sédiments. Reconnus pour leur capacité à capter et à séquestrer les gaz à effet de serre, les herbiers de zostère sont également prometteurs pour la phytoremédiation intertidale en raison de leur potentiel de bioaccumulation de certains métaux. L'objectif de cette étude était de déterminer le potentiel de phytoremédiation de la zostère en milieu subarctique et d'évaluer son impact, en particulier celui lié à la bioaccumulation de contaminants, sur la croissance des plantes, la concentration en métaux et la teneur en chlorophylle, en azote et en carbone dans les tissus. Nous avons exposé des zostères à des sédiments contaminés, selon un gradient de concentrations, par l'arsenic, le cadmium et le fer dans des conditions contrôlées et nous avons pu observer des capacités de bioaccumulation et de tolérance. *Zostera marina* a bien toléré le cadmium, sans montrer d'effet négatif significatif, mais avec un maximum de bioaccumulation dans les feuilles situées entre 2,5 et 5,3 mg/kg (PS) de cadmium dans les sédiments. En revanche, l'arsenic et le fer ont eu des effets négatifs sur la santé des plantes. Pour favoriser une bioaccumulation efficace tout en minimisant le stress induit par les métaux, et pour renforcer la contribution de ces herbiers au processus de carbone bleu sans compromettre leur capacité d'absorption des métaux, des limites de concentration dans les sédiments ont été fixées à 5,3 mg/kg (PS) pour le cadmium, 41,24 mg/kg (PS) pour l'arsenic et 22 400 mg/kg (PS) pour le fer. Ces résultats ouvrent la voie à l'utilisation de la phytoremédiation en zone côtière et encouragent la réalisation d'autres études sur les mécanismes physiologiques de la plante et l'efficacité des herbiers en conditions naturelles.

MARINE EELGRASS IN INTERTIDAL PHYTOREMEDIATION: EVALUATING METAL BIOACCUMULATION AND HEALTH IMPACTS

Authors : Cloé Falcoz^{1,*}, Richard Saint-Louis², Mathieu Cusson³

¹ Institut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, 310 allée des Ursulines, Rimouski (Québec), G5L 2Z9, Canada

² Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec à Rimouski, 300 allée des Ursulines, Rimouski (Québec), G5L 2Z9, Canada

³ Département des sciences fondamentales, Université du Québec à Chicoutimi, 555 boulevard de l'Université, Chicoutimi (Québec), G7H 2B1, Canada

* Corresponding author :

C. Falcoz

cloe.falcoz@uqar.ca

ABSTRACT

In coastal areas, anthropogenic activities such as industry, ports or agriculture can introduce metal contaminants into intertidal ecosystems. Eelgrass beds, often very abundant in coastal environment, are recognized for its ability to capture and sequester greenhouse gases and studies have also demonstrated its potential for bioaccumulating certain metals, making them promising candidates for intertidal phytoremediation. The aim of this study was to quantify the phytoremediation potential of eelgrass in subarctic environments and to assess its impact on plants growth, metal concentration and chlorophyll, nitrogen and carbon content in tissues. We exposed eelgrass (*Zostera marina* L.) to sediments contaminated with arsenic, cadmium and iron in a concentration gradient under controlled conditions and they showed bioaccumulation and tolerance capacities. *Zostera marina* tolerated cadmium well, showing no significant adverse effects, but with a maximum of bioaccumulation in leaves between 2.5 and 5.3 mg/kg DW in sediment. In contrast, arsenic and iron had negative effects on plant health. To promote effective bioaccumulation while minimizing metal-induced stress, and to enhance the contribution of these meadows to the blue carbon process without impairing their capacity for metal uptake, sediment concentration limits were established at 5.3 mg/kg DW for cadmium, 41.24 mg/kg DW for arsenic and 22 400 mg/kg DW for iron. These results pave the way for the use of phytoremediation in coastal areas and encourage further research into the physiological mechanisms of the plant and the effectiveness of seagrass beds under natural conditions.

Keywords:

Phytoremediation, trace metals, *Zostera marina*, marine sediments, subarctic environment

INTRODUCTION

In the last decades, trace metals and metalloids have become important marine pollutants and stressors for coastal aquatic ecosystems (Nagajyoti et al., 2010; Li et al., 2022). If they are naturally present in the environment by erosion of soils and rocks, depending on the geological nature of the site, they also can be released by point sources such as industries, port area and urban area or diffuse sources like surface run-off and atmospheric deposition (Li et al., 2023). Once in the environment, metals are not biodegradable but undergo redox transformation, making them more bioavailable and toxic. In the vicinity of sources of contaminants, concentrations in the sediments can reach or sometimes exceed environmental criteria resulting in multiple impacts on the biodiversity in the short, medium and long term (Gibson et al., 2007).

Restoration to remove or reduce contaminated sediments to acceptable levels often involve dredging techniques using excavators and bulldozers. However, these methods are intrusive and can be destructive to the ecosystem, highlighting the need for alternatives that minimise damage to habitat structures (Erftemeijer & Lewis III, 2006; Soetan et al., 2023). Phytoremediation, an effective and increasingly used method for treating various contaminants on land, offers a promising solution when applied to coastal areas, potentially benefiting ecosystems (Dabouineau et al., 2005; Robichaud, 2020). This technique relies on the ability of plants to remove and concentrate compounds from the environment (Lyngby & Brix, 1984; Li et al., 2023), and its use in intertidal areas could replace older, invasive methods and reduce metal pollution in coastal environments. Several studies have demonstrated the potential of certain plants in phytoremediation, particularly in accumulating metals through sorption when contaminants are present in water (Brix et al., 1983; Wang et al., 2017; Lee et al., 2019; Xu et al., 2019). However, contaminants are also present in sediments through precipitation and flocculation, and the full potential of phytoremediation in these areas requires further investigation.

The eelgrass, *Z. marina*, is an aquatic angiosperm plant that grows widely in estuarine and coastal waters specifically in the northern hemisphere. They play an important role in their ecosystem, supporting biodiversity by providing food sources, habitats and nursery grounds, and are also known for their blue carbon capacity (Beck et al., 2001; Ruesink et al., 2018). Their leaves, roots, and rhizomes create a network that can absorb and accumulate various compounds, including inorganic nutrients. The roots and rhizomes serve as an important biogeochemical sink and sediment stabilizer (Lee et al., 2019; Afifudin et al., 2022; Apostolaki et al., 2022). A study conducted in South Korea demonstrated that *Z. marina* thrives after transplantation and is indicative of metal contamination in sediments due to its ability to bioaccumulate metals (Lee et al., 2019). In addition, eelgrass meadows act as biogeochemical sinks, where bioaccumulated elements can be stored for long periods of time (Apostolaki et al., 2022; Lafratta et al., 2023). However, the maximum levels of bioaccumulation and exposure limits have yet to be established.

Eelgrass can survive in contaminated sediments up to certain concentration thresholds, beyond which bioaccumulation may decrease and eelgrass health may be compromised (Fabris et al., 1982; Lyngby & Brix, 1984; Wang et al., 2017; Espel et al., 2019). Several parameters could be measured in response to metal contamination in the sediments in order to monitor the general health of the eelgrass and assess how it implements physiological strategies in the face of environmental stress. For this study, growth, chlorophyll *a* and *b* content in the leaves and carbon and nitrogen content in the tissues were chosen as the parameters to be measured. Trace metals can disrupt chloroplast metabolism, notably by slowing or even inhibiting the biosynthesis of chlorophyll, or by generating reactive oxygen species that can degrade chlorophyll. Therefore, variations in chlorophyll pigment levels in eelgrass leaves may reflect changes in the plant's physiological state in response to altered environmental conditions (Liu et al., 2011; Li et al., 2012; Fonte et al., 2023). Trace metal contamination can also lead to reduced growth or changes in tissue biochemical composition, such as carbon and nitrogen content (Fourqurean et al., 2012; Qin et al., 2021). These effects are partly due to the disruption of key physiological processes, as trace metals can impair membrane integrity and interfere with the enzymes involved in

carbon assimilation. The C/N ratio can be a good indicator of the plant health, providing insight into the environmental conditions that affect growth and the efficiency of nitrogen use (NUE) (Yadav et al., 2015; Zhang et al., 2020). If the C/N ratio, and therefore carbon and nitrogen levels, are disturbed, plant health and hence phytoremediation capacity may be compromised. In addition, seagrass beds play a crucial role in the capture and sequestration of atmospheric carbon (Duarte et al., 2005; Siikamäki et al., 2013; Röhr et al., 2018; Lafratta et al., 2023). Perturbations in eelgrass tissue carbon composition or biomass production could compromise this important sink, which actively contributes to the blue carbon cycle. However, if the maximum sediment concentration limits are known, phytoremediation can be optimised and adapted to each target site. So, setting limits on use will allow adapting the actions implemented to decontaminate certain sites; if metal concentrations are too high, the trace metal uptake by the plants, from the sediment, may not be sufficient to reach environmental criteria (Environnement Canada et al., 2007). Moreover, studies on phytoremediation using eelgrass were mainly limited to warm temperate environments (Lee et al., 2019; Li et al., 2023). In subarctic areas, the growth is limited to the summer months and winter/spring ice-scouring events often leave rhizomes without aerial parts, which may limit the optimal bioaccumulation period. Such factors, among others could change the accumulation dynamics of trace metals and metalloids.

The objective of this study is to characterise the metal bioaccumulation potential of *Zostera marina* in the boreal/subarctic environment. We aim to 1) determine the potential and the limit of bioaccumulation of arsenic, cadmium and iron in eelgrass tissues and 2) determine the effects of metal on eelgrass by measuring its growth, carbon and chlorophyll content after the exposure experiment. We hypothesise that metal uptake by eelgrass will increase proportionally with sediment concentrations until either a saturation point is reached, or plant health is significantly compromised. Beyond this threshold, two scenarios are possible: (1) metal concentrations in plant tissues stabilise despite increasing sediment contamination, suggesting a regulatory mechanism, or (2) they decrease, suggesting physiological stress, potential detoxification processes or inhibited uptake due to toxicity. Bioaccumulation is expected to vary between metals, with iron accumulating at higher levels

due to its essential role in eelgrass metabolism, whereas cadmium and arsenic may show lower accumulation but greater toxic effects. To conduct this study, an experiment was performed under controlled conditions in a laboratory setting.

MATERIAL AND METHODS

1.1.1 Source of sediment

We use several microcosms in laboratory to achieve our objectives. We exposed eelgrass plants to several conditions during four weeks with contaminated sediment with varying levels of metallic contaminants. As control, we collected sediments in the Bay of Sept-Îles, located on the north coast of the Gulf of St. Lawrence (Quebec, Canada). We chose this location because it contains several coastal marine habitats under anthropogenic pressure from industries, a port area and an urban area (Figure S 1). In certain areas of the bay, concentrations of several trace metals and metalloids are high, particularly cadmium, arsenic and iron (Carrière, 2018). This contamination is largely attributed to industrial and port activities, which increase cadmium and arsenic concentrations, both of which are known for their toxicity. Similarly, iron concentrations are exceptionally high due to mineral transport, raising concerns about potential ecological impacts. Despite these environmental stressors, eelgrass beds dominated by *Zostera marina* - the only thriving eelgrass species in the system - form one of the largest eelgrass bed in the St. Lawrence marine system (Martel et al., 2009; Murphy et al., 2021). These conditions make it a good source of sediments for our experiments. Such base sediments contained 0.66 mg/kg (DW) of arsenic, 0.02 mg/kg (DW) of cadmium and 9 300 mg/kg (DW) of iron and were considered as controls in our experiments.

1.1.2 Exposure systems

In the laboratory, series of microcosms were arranged in a support system for each metal considered (arsenic, cadmium, iron). Each system consisted of 30 microcosms tubes (10 cm diameter, 45 cm height) equipped with seawater inlets and outlets (Figure 5; Figure

S 2). The seawater was pumped directly from the St. Lawrence estuary over the duration of the exposures. The seawater had an average salinity and temperature of 27.3 ± 0.9 PSU and 9.8 ± 0.3 °C, respectively. The flow rate across the microcosms was maintained approximately at 400 mL per minute. The bottom of each control microcosm was filled with 15 cm sediment from the Bay of Sept-Îles. For all other microcosms, we used a bottom 10 cm layer of that base sediment with added top 5 cm layer with varying contaminant concentrations (Table 1) with iron (enriched with FeCl_3), arsenic (As_2O_5) and cadmium (CdCl_2) (supplied from Sigma Aldrich). Each treatment was replicated 3 times. To contaminate sediments, we mixed sediments from the Bay of Sept-Îles with water and metal salts to reach concentrations as specified in Table 1 and stirred overnight. Then, the mixture was left to settle overnight, the supernatant was removed, and the contaminated sediments were transferred to closed containers until ready for use. The concentration range for cadmium and arsenic was specifically chosen to be representative of natural, contaminated, and extremely contaminated concentrations. It encompasses concentrations similar to or higher to levels of occasional effect and frequent effect on benthic species in marine sediments as determined by the legislation in place (Environnement Canada et al., 2007). For iron, no threshold concentration exists. We used contamination levels measured at various points in the Bay of Sept-Îles (Carrière, 2018), from areas with lower contamination and a healthier ecosystem to highly contaminated sites near the port, to establish a realistic range of contamination typical of industrial port environments.

Table 1: Average ($\pm$ SE) labile metal concentrations measured in sediments for exposure under controlled conditions (DW)

Exposure levels	Arsenic (mg/kg)	Cadmium (mg/kg)	Iron (mg/kg)
Control*	0.66 $\pm$ 0.11	0.02 $\pm$ 0.004	9 300 $\pm$ 1 617
1	5.55 $\pm$ 0.41	0.20 $\pm$ 0.17	16 700 $\pm$ 2 835
2	9 .15 $\pm$ 1.96 ^a	0.27 $\pm$ 0.05	22 400 $\pm$ 4 317
3	41.24 $\pm$ 1.57	0.83 $\pm$ 0.23	26 500 $\pm$ 1 605
4	80.39 $\pm$ 2.43	2.50 $\pm$ 0.29 ^a	53 900 $\pm$ 10 257
5	163.79 $\pm$ 5.51 ^b	5.30 $\pm$ 0.97 ^b	67 600 $\pm$ 12 337
6	322.58 $\pm$ 8.47	19.50 $\pm$ 2.28	107 800 $\pm$ 15 632

*Levels from control in Sept-Îles Bay. ^aLevels of occasional effect. ^bLevels of frequent effect.

1.1.3 Eelgrass collection and exposure

For logistical and practical reasons, eelgrass was collected from Rimouski's meadow (Quebec, Canada). Although *Zostera marina* from Rimouski and Sept-Îles belong to the same species and share many physiological traits, environmental and geographical factors mean they form genetically distinct populations (Jeffery et al., 2024). However, given the conserved ecological functions of eelgrass across its range in the EGSL, and the nature of the physiological responses studied here, the Rimouski plants are a relevant model for interpreting the effects of metal exposure in *Z. marina* in the context of subarctic environment.

The collections took place on 27 July 2022 for cadmium, 5 August 2022 for arsenic, and 9 September 2022 for iron. Plants of similar size (intact leaves about 25 cm long) with a 4 cm long rhizome were collected by hand and defaunated by gentle finger rubbing and brief rinsing in freshwater. On the same day, we marked each plant for growth measurements using the technique of plastochrone (Gaeckle & Short, 2002; Ruesink et al., 2018), and we planted six plants in each microcosm to a depth of approximately 2 cm (Figure 5). The microcosm tubes were randomly placed on the exposure systems for each metal (Figure S 2). The plants

were left in the microcosms for four weeks under a 10/14 hours ON/OFF photoperiod. The light source provided a photon flux of $520 \mu\text{mol/s}$ with an efficacy of $3.0 \mu\text{mol/J}$, resulting in a light intensity of approximately $610 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at 30 cm, the distance between the plants and the lamp. After the exposure period of 4 weeks, eelgrass was rinsed and the growth measured. Above- (leaves and sheath; thereafter named “leaves”) and below-ground (roots and rhizomes, thereafter named “roots”) tissues were separated and stored at -80°C until further analysis.

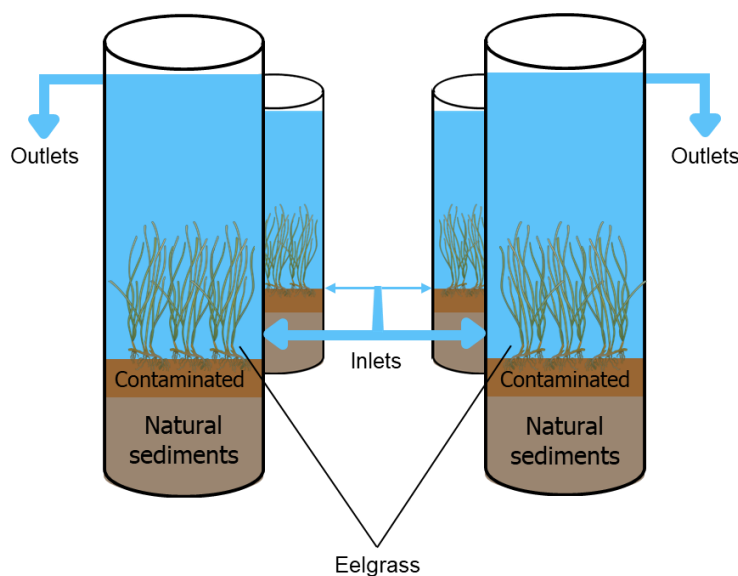


Figure 5: Schema of the laboratory exposure system. Each microcosm tube consists of a bottom layer of natural (uncontaminated) sediments and a top layer of contaminated sediments. Six aquatic plants were planted in each tube. Tubes were filled with seawater and the system allows a continuous flow of water through dedicated inlets and outlets.

1.1.4 Measurements of growth

Growth was determined using the plastochrone method (Gaeckle & Short, 2002; Ruesink, 2018). After collecting plants, we used a needle (thumbtack) to mark each eelgrass at the leaf nodes on the stem. At the end of experiments, we measured growth by considering the initial mark on the stem, the growth mark on the leaves, and the total length of the plant. These measurements enabled us to calculate relative growth (%).

1.1.5 Eelgrass tissue metal extraction

Leaves and roots of the eelgrass plants were freeze-dried and ground into a fine powder. 50 mg of samples were digested (modified method from Brix et al. (1983) and Krishnamurty and MM (1976)) with nitric acid (trace metal grade, 70%) and hydrogen peroxide (trace metal grade, 30%) (ratio $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2 = 2:1$) at 60°C for 2 hours. The resulting solution was first filtered using Whatman filter paper (Grade 42, ashless, 90 mm), followed by filtration through a syringe polytetrafluoroethylene (PTFE) filter (25 mm, 0.45 μm). Samples were diluted to a volume of 12.5 mL with nanopure water and stored at 4°C until analysis. Cadmium and arsenic were measured with graphite furnace atomic absorption spectrometer (Agilent, Zeeman, AAS 240Z) and iron with a microwave plasma-atomic emission spectrometer (Agilent, MP-AES 4200). Control blanks were processed as samples and subtracted from the sample results.

1.1.6 Extraction of labile metals from contaminated sediments

Concentrations in the sediments were measured at the start of the experiment to get a better idea of the level of contamination to which the plants were exposed. Bulk sediments were dried at 105°C for a minimum of 2 hours. Subsequently, 100 mg of the dried sediments were digested with nitric acid (trace metal grade, 70%) and hydrogen peroxide (trace metal grade, 30%) (ratio $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2 = 2:1$) for 2 hours at 60°C. The resulting solution was initially filtered using Whatman filter paper (Grade 42, ashless, 90 mm) and then through a syringe PTFE filter (25 mm, 0.45 μm). Samples were stored at 4°C until analysis. Cadmium and arsenic were measured with graphite furnace atomic absorption spectrometer (Agilent, Zeeman, AAS 240Z) and iron with a microwave plasma-atomic emission spectrometer (Agilent, MP-AES 4200). We estimated the performance of our method with standard reference material (NIST, 1944, New York/New Jersey Waterway Sediment). Our measured concentrations in the certified material are lower than expected because our method is deliberately less corrosive to extract only the labile metals that are bioavailable to plants (Table 2).

Table 2: Summary of measured metal concentrations in certified material, expected values, observed results and relative method error (DW)

<i>Metal</i>	<i>Expected results</i> (mg/kg)	<i>Obtained results</i> (mg/kg)	<i>Relative error</i> (%)
<i>Arsenic</i>	18.9 ± 2.8	5.85 ± 0.55	- 69.05
<i>Cadmium</i>	8.8 ± 1.4	7.4 ± 0.5	- 15.45
<i>Iron*</i>	3.53 ± 0.16	1.92 ± 0.04	- 45.61

*Mass fraction (%)

The detection limits were 2.01 µg/L for arsenic, 0.21 µg/L for cadmium and 2.37 mg/L for iron using our specific analytical methods. Control blanks were processed as samples and subtracted from the sample results.

1.1.7 Proxies of plant health

Chlorophyll concentrations and the chlorophyll *a/b* ratio were measured to provide insights into the physiological status of the plants. A decrease in chlorophyll concentrations may reflect an inhibitory effect of metals on pigment synthesis, or enhanced pigment degradation, both of these could indicate stress. Conversely, an increase in the chlorophyll *a/b* ratio may suggest a shift in pigment composition in response to changing environmental conditions, potentially reflecting physiological adjustments to stress (Zengin & Munzuroglu, 2005; Fonte et al., 2023).

The carbon and nitrogen percentages were used to indicate a change in plant biomass and a reduction in carbon uptake and sequestration. The C/N ratio was used to indicate plant strategies and mechanisms. Typical C/N ratio for eelgrass is between 15 and 30 (Pedersen & Borum, 1992; Fourqurean et al., 1997). A higher ratio suggests that the plant is prioritising survival by allocating carbon to the production of durable structural components, such as lignin and cellulose, at the expense of growth. In contrast, a lower ratio indicates rapid

production of biomass, such as leaves and roots, with less emphasis on structural reinforcement and long-term survival (Zheng, 2009; Yadav et al., 2015; Zhang et al., 2020).

1.1.7.1 Chlorophylls content in leaves

Extraction and quantification of chlorophyll *a* and *b* were performed according to Warren (2008) and Israsena Na Ayudhya et al. (2015). Briefly, 10 mg of dried tissue was placed in tubes containing 1 mL of 90% acetone and left in the dark at 4°C overnight. Samples were centrifuged at 3100 rpm for 10 min, the supernatant was collected and 400 µL added to a microplate (96 wells) for analysis using a microplate reader (BioTek Synergy H1 Multimode Reader, Agilent). Absorbance measurements were performed at two different wavelengths, 440 nm for chlorophyll *a* and 460 nm for chlorophyll *b*. A calibration line was established using a laboratory solution of chlorophyll *a* and *b* (MilliporeSigma, Chlorophyll *a* and *b* from spinach). Control blanks were processed as samples and subtracted from the sample results.

1.1.7.2 Carbon and nitrogen content

Approximately 3 mg of each tissue was precisely weighed using a microbalance. Samples were encapsulated in tin capsules (Elemental Microanalysis, 11.5 x 7 mm). Carbon and nitrogen contents were determined using an elemental analyser (Flashsmart Elemental Analyser, Thermo Scientific). Thermo Scientific BBOT standard CHNS has been used to calibrate the instrument. The blanks were done by running the method without a sample.

1.1.8 Statistics treatments

All variables were compared among exposure treatments (7 levels, fixed) using a one-way analysis of variance (Table S2- Table S9). We visually checked the residuals for normality and homoscedasticity (Quinn & Keough, 2002; Montgomery, 2012). For metal tissue concentrations, $\log(x+1)$ transformation was applied while no transformation was necessary for carbon, nitrogen, relative growth and chlorophyll contents. We performed multiple comparisons using a Tukey-HSD test when the treatment factor was significant

(Table S10 - Table S26). An observed higher concentration of metals in tissues under any of our enriched treatment compared to our unenriched controls was considered as evidence of bioaccumulation. All tests were performed using JMP statistical software. We used a significance level of $\alpha = 0.05$ for all statistical analyses.

RESULTS

1.1.9 Metals in tissues

We observed strong effects of metal enrichment on metal concentration in eelgrass tissues for all studied metals (Table S6; Figure 6). The trends for all metals were very similar between type of tissues.

Arsenic concentrations increased significantly in both leaves and root tissues at sediment treatment up to 4th level (80.39 mg/kg DW) where concentrations in tissues reach in leaves $380.81 \pm 191.51 \mu\text{g/g}$ ($F_{6,33} = 103.403$; $p\text{-value} < 0.001$) and in roots $321.04 \pm 133.84 \mu\text{g/g}$ ($F_{6,33} = 197.523$; $p\text{-value} < 0.001$). Beyond this latter level, tissue concentrations decreased. In roots, arsenic concentrations in the control were significantly different from those at all other levels. In leaves tissues, concentrations at the first enriched level of contamination in sediment ($5.55 \pm 0.41 \text{ mg/kg DW}$) were similar to the control but significantly different from those at higher treatment levels (Figure 6A).

For cadmium concentrations in leaves, bioaccumulation was observed up to the 4th level (2.5 mg/kg DW), before decreasing; whereas in roots, there was no maximum bioaccumulation, concentrations increased to the highest levels of contamination in sediment (19.5 mg/kg DW) ($F_{6,33} = 23.040$; $p\text{-value} < 0.001$; $F_{6,35} = 125.584$; $p\text{-value} < 0.001$; Figure 6B).

Iron is the most accumulated of the three metals. Tissue concentrations increased throughout the interval without reaching a maximum and the control was significantly different from all other levels ($F_{6,35} = 197.814$; $p\text{-value} < 0.001$; $F_{6,35} = 143.312$; $p\text{-value} < 0.001$; Figure 6C).

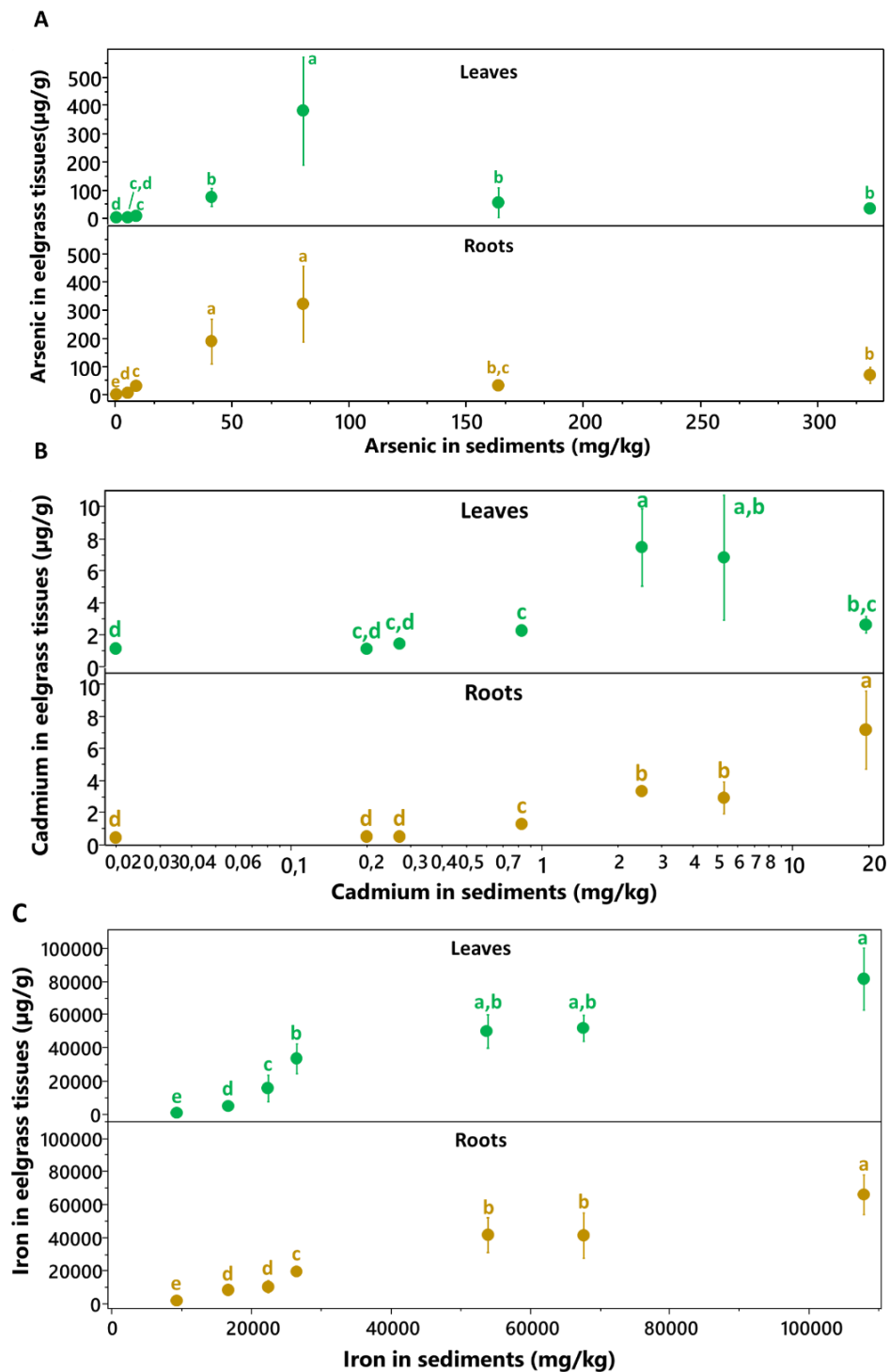


Figure 6: Average ($\pm$ SE) values of concentration in eelgrass tissues (leaves and roots: green and brown dots respectively, $\mu\text{g/g}$ DW) across enriched treatments levels of (A) arsenic, (B) cadmium and (C) iron in sediments (mg/kg DW). Note the logarithm scale for cadmium. Different letters above averages indicate significant differences ($p < 0.05$).

1.1.10 Relative growth

The three metals affected eelgrass growth differently in response to all exposure treatments (Table S2; Figure 7).

A reduction in growth was only observed at the highest level of arsenic contamination in the sediments (1.08 ± 0.51 %), with an average reduction of 44% compared to the control (1.93 ± 0.33 %) ($F_{6,52} = 5.215$; p-value < 0.001; Figure 7A).

We observed no significant effect of cadmium on growth with a relative growth of 1.81 ± 0.55 % for the control level and 1.89 ± 0.43 % for the contaminated levels on average ($F_{6,54} = 0.974$; p-value = 0.452; Figure 7B). In contrast, a very strong negative effect was observed into our iron enriched sediments ($F_{6,39} = 19.519$; p-value < 0.001; Figure 7C). A strong reduction in growth was already observed between the control level (1.50 ± 0.35 %) and the third level of contamination in sediment (0.34 ± 0.28 %). An average reduction of 96% was observed between the control level and the two highest levels (0.06 ± 0.04 % and 0.05 ± 0.03 %), which were similar to each other. By the end of the exposure experiment, the leaves and roots of plants at the highest level of arsenic contamination had blackened, as had the tissues of plants at the third and higher levels of iron contamination.

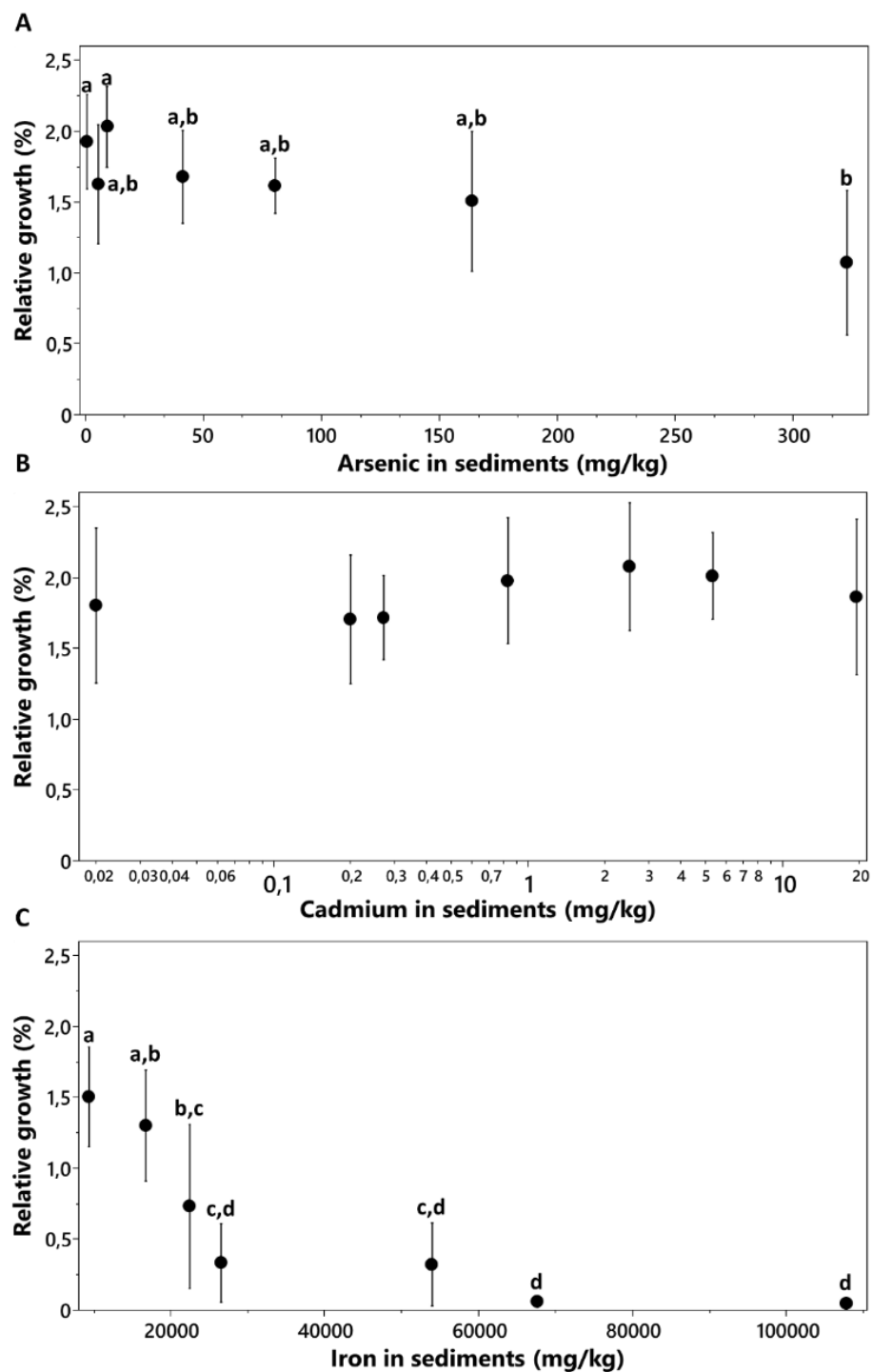


Figure 7: Average ($\pm$ SE) of eelgrass relative growth across enriched treatments levels of (A) arsenic, (B) cadmium and (C) iron in sediments (mg/kg DW). Note the logarithm scale for cadmium. Different letters above (or associated to) averages indicate significant differences ($p < 0.05$).

1.1.11 Chlorophyll *a* and *b* in tissues

We observed a significant increase for arsenic chlorophyll *a/b* ratio at the third enriched treatment level in sediment reaching 3.37 ± 0.08 , followed by a decrease ($F_{6,14} = 3.927$; p-value = 0.016; Table S5). This is the only arsenic level that differs from the control (Table S19; Figure 8A). For cadmium, no difference was observed with a global average of 3.11 ± 0.24 ($F_{6,14} = 3.238$; p-value = 0.514; Figure 8B).

In contrast, a significant and progressive strong increase in the ratio was measured for iron enrichment ($F_{6,14} = 9.044$; p-value = 0.002) from the fourth level (5.27 ± 0.67) to the highest (6.80 ± 1.09), which was different from all the others (Table S20; Figure 8C).

Chlorophyll *a* and *b* concentrations (Table S1) remained unchanged across the tested arsenic concentrations with a global average of 0.0038 ± 0.0005 mg/g for chl *a* and 0.0012 ± 0.0002 mg/g for chl *b* (Table S3; Table S4 ; $F_{6,14} = 1.312$; p-value = 0.315; $F_{6,14} = 1.525$; p-value = 0.241). For cadmium, concentrations increased significantly from the control level (0.0018 ± 0.0004 mg chl *a*/g and 0.0006 ± 0.0002 mg chl *b*/g) to the fourth level (0.0049 ± 0.0014 mg chl *a*/g and 0.0014 ± 0.0004 mg chl *b*/g) ($F_{6,13} = 4.412$; p-value = 0.012; $F_{6,13} = 4.693$; p-value = 0.009). And for iron, concentrations showed a marked decrease from the second enrichment level (0.0008 ± 0.0003 mg chl *a*/g and 0.0002 ± 0.0001 mg chl *b*/g) ($F_{6,9} = 27.289$; p-value < 0.001; $F_{6,9} = 44.390$; p-value < 0.001).

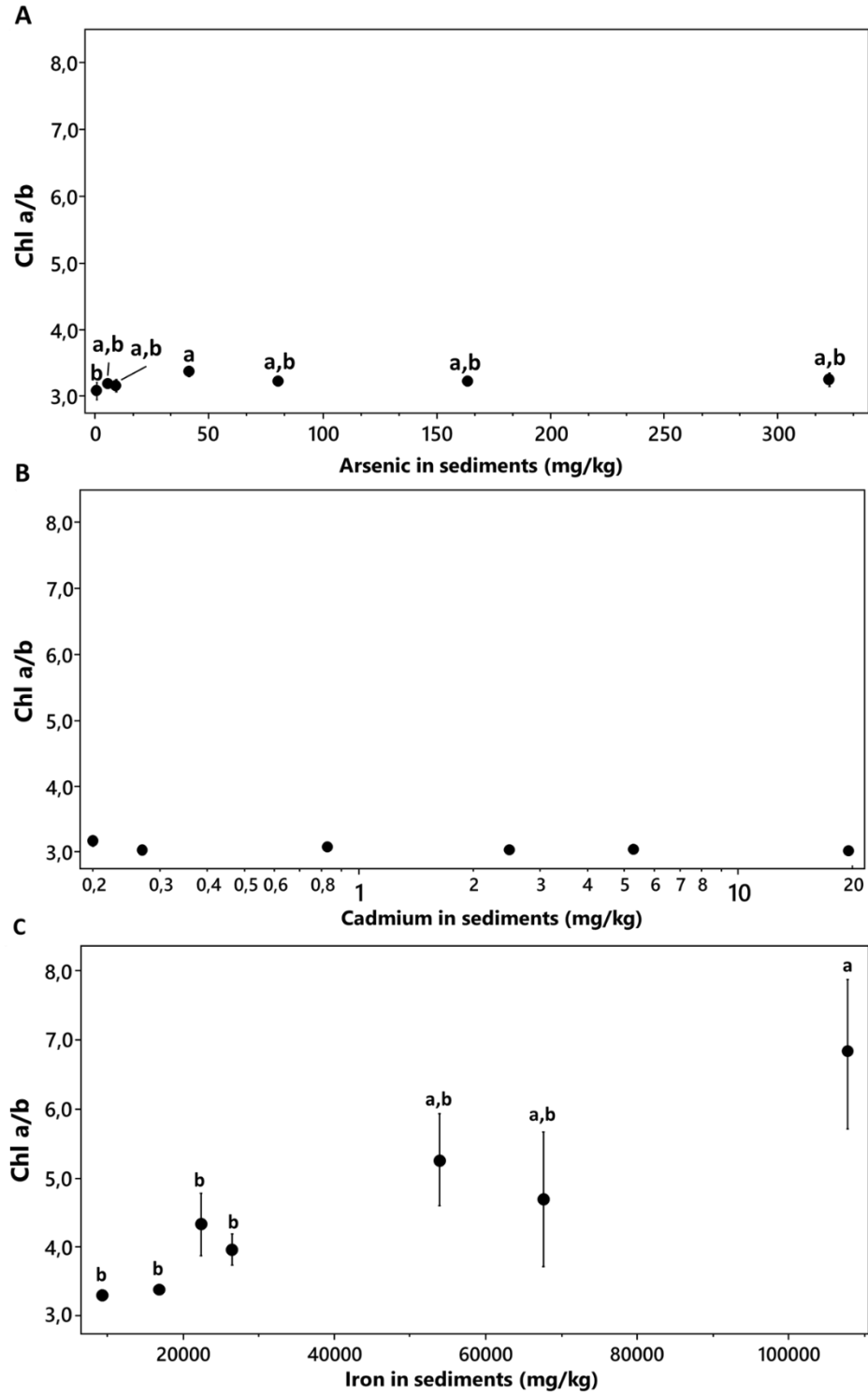


Figure 8: Average ($\pm$ SE) of leaf chlorophyll *a/b* ratio across enriched treatment levels of arsenic (A), cadmium (B, scale is logarithmic) and iron (C) in sediments (mg/kg DW). Different letters above averages indicate significant differences ($p < 0.05$).

1.1.12 Carbon and nitrogen content in tissues

The percentage of carbon content in leaves and roots was not affected by arsenic enrichment in sediments with a global averages of 34.23 ± 1.89 % in rhizomes and 38.94 ± 0.59 % in the leaves (Table S7; Figure 9A). For cadmium, we observed a decrease in leaves ($F_{6,14} = 1.782$; p-value = 0.002) at the fourth level of contamination (37.13 ± 0.35 %), which was the only one significantly different from the control (38.64 ± 0.26 %), but no effect on the percentage of carbon content in roots (34.73 ± 1.96 %) ($F_{6,14} = 1.640$; p-value = 0.209; Table S7; Figure 9B).

With iron enrichment, carbon content decreased ($F_{6,14} = 8.424$; p-value < 0.001; $F_{6,14} = 6.920$; p-value = 0.002), starting from the third level of enrichment in sediment (32.34 ± 1.12 %) in leaves and at the highest level in roots (23.49 ± 4.58 %). Total losses were 17.8% and 23.2% for leaves and roots respectively at the highest level (Table S7; Figure 9C).

For cadmium- and iron-enriched sediments, the percentages of nitrogen content in both tissues remained largely stable across all concentrations except in leaves for iron exposure. The global average percentages were 1.62 ± 0.24 % in leaves and 1.22 ± 0.33 % in roots for cadmium exposure and 0.40 ± 0.18 % in roots for iron exposure. A significant difference from the control (0.83 ± 0.24 %) was observed in the leaves of iron-enriched sediments at the third level (0.32 ± 0.16 %), although this did not show a significant trend in relation to our concentration range as all other level were similar to the control ($F_{6,14} = 4,325$; p-value = 0.011). By contrast, the nitrogen content of eelgrass roots decreased under arsenic exposure ($F_{6,14} = 4.842$; p-value = 0.007). All levels from the third onwards (1.14 ± 0.39 %) were significantly different to the control level (4.08 ± 1.93 %), but there were similar to each other. However, no difference was observed in the leaves (2.12 ± 0.18 %) (Table S8; Figure S 3).

The C/N ratio showed only a significant difference between the control level (9.54 ± 3.75) and the third level of contamination (33.20 ± 9.99) in roots for arsenic exposure and no difference in leaves (18.53 ± 1.60) (Figure S 4A; $F_{6,14} = 5,145$; p-value = 0,007). C/N ratio remained similar in the leaves (23.88 ± 3.63) and roots (30.44 ± 8.67) for cadmium-

enriched sediments (Figure S 4B). Finally, the third level (19.19 ± 1.21 in leaves and 98.15 ± 42.15 in roots) was significantly higher in both tissues for iron-enriched sediments than in the control (20.72 ± 2.69 in leaves and 39.92 ± 14.85 in roots), but this difference did not show a clear trend with increasing metal concentration in sediments (Table S9; Figure S 4C).

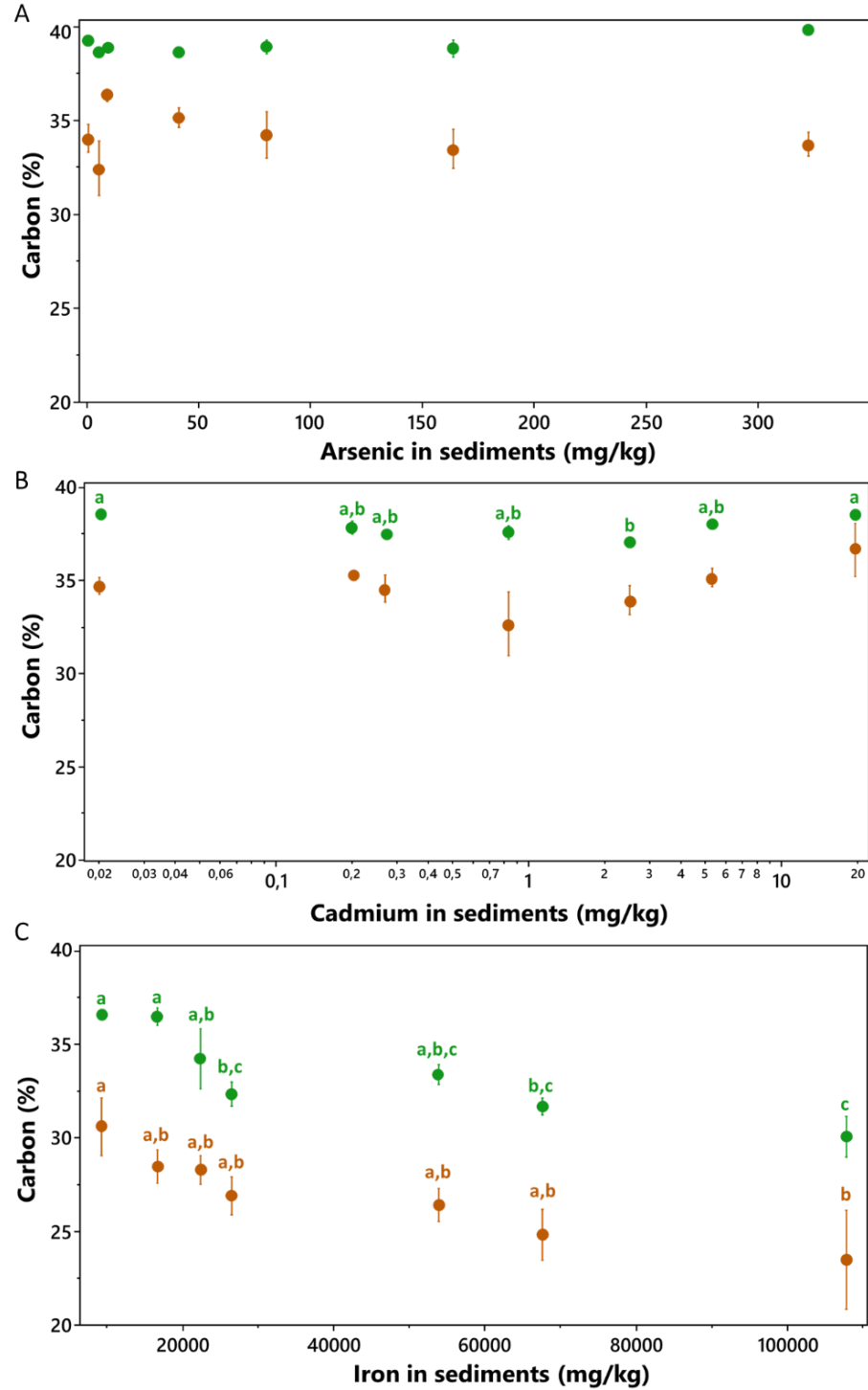


Figure 9: Average ($\pm$ SE) of the percentage of carbon content in leaves (green) and roots (brown) across enriched treatments levels of arsenic (A), cadmium (B, scale is logarithmic) and iron (C) in sediments (mg/kg DW). Different letters above averages indicate significant differences ($p < 0.05$).

DISCUSSION

The aim of our experiment was to characterise the metal bioaccumulation potential of the eelgrass *Zostera marina* and the possible effects of an exposure on plant growth and chlorophyll, carbon and nitrogen contents.

Our results showed that iron was the most bioaccumulated and the most damaging of the three contaminants even at our first levels of contamination in sediments. Eelgrass growth was affected from the third level of sediment contamination (26 500 mg/kg DW), chlorophyll content from the second level (22 400 mg/kg DW), and carbon content percentage from the third level in leaves and from the highest level in roots (107 800 mg/kg DW). Only nitrogen content percentage was not significantly affected. In contrast, eelgrass showed high tolerance to cadmium, even at our highest level, with maximum bioaccumulation in the leaves occurring between the fourth and fifth levels (2.5 mg/kg and 5.3 mg/kg DW). And arsenic was bioaccumulated up to the fourth level of contamination in the sediment (80.39 mg/kg DW) and affected eelgrass growth as well as nitrogen content percentage. Our experiment enables us to set limits for metal concentrations in sediments in order to use phytoremediation in intertidal ecosystems.

Our growth control measurements, as well as the concentrations of carbon, nitrogen and chlorophyll in the control treatments, were consistent with the values reported in previous studies. For instance, the average daily growth rate of plants in our controls was 12.63 ± 5.50 mm/day, which is consistent with the minimum growth rate of 0.71 cm/day (7.1 mm/day) reported by Zhang et al. (2015) in their reference treatment. Similarly, the C/N ratio in plant tissues remained within the expected range. Yadav et al. (2015) reported a ratio of 26.4 ± 2.8 for their uncontaminated sample. Chlorophyll *a* and *b* concentrations also matched previously published values by Li et al. (2012), in their study of the impact of trace metal stress on *Z. marina*. The only exception was iron-related chlorophyll concentrations, which were lower in our study. This is probably because our sampling period was later in the growing season.

1.1.13 Arsenic exposure

We observed bioaccumulation of arsenic in eelgrass tissues at high concentrations, but such high accumulation may lead to high mortality. Our results suggest that, on a longer exposure, the plant may not survive.

In our experimental setup, arsenic was taken up by leaves and roots up to the fourth level of contamination in sediments. Arsenic is not essential for plants, but eelgrass like *Z. marina* is known to bioaccumulate it (Li et al., 2016), as also shown by our results. Such bioaccumulation is possible because of the similarity between As in its arsenate form and phosphate (P), allowing arsenic to enter the plant system by the roots (Nagajyoti et al., 2010; Bat et al., 2016; Bonanno & Di Martino, 2016). To cope with arsenic contamination, plants implement protective mechanisms by shedding temporary organs (leaves and stems) to preserve essential ones (roots and rhizomes) (Bonanno & Di Martino, 2016). Other plant defence mechanisms include the suppression of the high-affinity phosphate-arsenate uptake system, thereby reducing the arsenic flux into the tissues (Nagajyoti et al., 2010), which could explain the decrease in tissue concentrations after our fourth level treatment (80.39 mg/kg DW) of arsenic in the sediment. If this protective strategy allows plants to survive, on a long term their health may be compromised. The observed pattern in the results may indicate the implementation of such a strategy. It was demonstrated that leaf growth was diminished by arsenic at the maximum level of contamination (322.58 mg/kg DW). Despite the absence of an effect on chlorophyll and carbon content, a significant decline in leaf nitrogen was observed, from 41.24 mg/kg DW. With blackened stems and a reduction in nitrogen content in the leaves and growth reduction, the health of the eelgrass started to be affected by the arsenic. To achieve good phytoremediation conditions, a compromise must be found between bioaccumulation and plant health. Our results suggest that a limit of about 40 mg/kg DW of labile arsenic in sediment is a concentration that would allow fairly good bioaccumulation while limiting negative effects on the plant.

1.1.14 Cadmium exposure

We found that eelgrass was overall tolerant to Cd exposure. Our results suggest that when Cd is in sediment at rather low concentration (between our control, at 0.02 mg/kg DW, and the fourth level, at 5.3 mg/kg DW), *Z. marina* bioaccumulates more in leaves than in the roots-rhizome system. In contrast, at the highest concentrations (19.5 mg/kg DW), leaf accumulation of Cd decreased and below-ground tissues offered a greater potential for Cd accumulation. Bonanno and Di Martino (2016) mentioned a mechanism in rooted plants that aims to accumulate certain toxic elements in below-ground tissues to protect above-ground tissues and photosynthetic processes in leaves. This explanation would hold with our results as we did not observe any effect on both relative growth and chlorophyll content in our concentration range, even at the highest cadmium concentration. In addition, carbon and nitrogen contents and C/N ratios were similar at all concentrations. Our results support that eelgrass tolerated labile cadmium in sediment very well as roots bioaccumulated without reaching a plateau and leaves saturated between 2.5 mg/kg and 5.3 mg/kg DW. These results suggest that *Z. marina* is an excellent phytoremediator for cadmium even at very high concentrations such as our highest which is above the concentration of frequent effect on benthic species in marine sediments (Environnement Canada et al., 2007). Similar results were reported by Yadav et al. (2021), they reported that *Z. marina* can accumulate up to 10 mg/g of Cd in these tissues without any toxic effect. As no effect was measured on the selected plant health parameters, the phytoremediation limit would then be between 2.5 mg/kg and 5.3 mg/kg DW, which represents the maximum bioaccumulation in leaves.

1.1.15 Iron exposure

We clearly show that iron caused significant harm to eelgrass physiology, growth, and photosynthesis system. Although iron is an essential element involved in many metabolic processes in plants and is not considered as toxic as arsenic or cadmium, hence the lack of regulatory limits for marine sediments (Environnement Canada et al., 2007; Nagajyoti et al., 2010; Xu et al., 2019), its effects on eelgrass were very significant and pronounced in our experiment. Iron plays a crucial role in several essential processes, including photosynthesis,

respiration, electron transfer, chlorophyll synthesis and oxygen cycling. Therefore, it can be a limiting factor for plant development at low concentrations (Xu et al., 2019). But even an essential metal, such as iron or copper, could be toxic for plant and impact biomass production or photosynthesis process (Zhao et al., 2016). Thus, iron is easily bioaccumulated by eelgrass, and our results showed that tissue concentrations increased with sediment contamination. As an essential element, its content is higher than non-essential elements such as arsenic or cadmium. However, the negative effects of iron exposure were much more pronounced than for the other two metals. In high concentrations, and especially when Fe^{2+} is in the majority in the sediments, which is the case in flooded conditions, iron becomes toxic for plants and causes several metabolic damages (Nagajyoti et al., 2010). This ion is taken up in soil or sediment by roots-rhizome system and transported to leaves. In excess, it generates free radicals and adversely affects cell structure, membrane, DNA and proteins (Arora et al., 2002; Nagajyoti et al., 2010). The root-rhizome system was the most exposed to sediment contamination. It represents a large surface for uptake of iron ions by its root zone, which provides its nutrient pumping (Faraday & Churchill, 1979; Brix & Lyngby, 1982). In our experiment, the concentrations were deliberately high in order to reproduce those measured in the port area of the Bay of Sept-Îles (Carrière, 2018). This resulted in an increase in iron concentrations in eelgrass tissues; indeed, all enriched levels were significantly different from the control, even the first one (16 700 mg/kg DW) showed strong bioaccumulation. Eelgrass tissues readily bioaccumulate iron; however, as sediment concentrations increase, growth, as well as chlorophyll and carbon contents, significantly decrease. The reduction in growth occurred from the third level (26 500 mg/kg DW) and became more pronounced with increasing contamination. In addition, the chlorophyll *a/b* ratio increased in our concentration range as both chlorophyll contents decreased significantly from the second level of enrichment (22 400 mg/kg DW), indicating a stressful situation for the plant (Zengin & Munzuroglu, 2005). As the photosynthesis process and biomass production are linked, when chlorophyll levels fell, growth and biomass production also fell and the health of the plant can be compromised (Liu et al., 2011). Their sink carbon capacities were also impacted as carbon content percentage showed. In leaves, a decrease

was observed from the third level of contamination (26,500 mg/kg DW), while in roots, the highest level was recorded (107,800 mg/kg DW). The nitrogen content percentage was the only variable that remained unaffected, as no impact was measured. Considering the comprehensive results obtained, it can be concluded that iron bioaccumulation had a detrimental effect on the health and survival capacity of eelgrass. This finding highlights a potential obstacle to phytoremediation efforts and calls for careful planning in a situation of iron pollution.

1.1.16 Concluding remark and phytoremediation potential

Our experiment revealed great capacities of the eelgrass *Zostera marina* to bioaccumulate arsenic, cadmium and iron and to tolerate them up to certain limit. We recall that a great phytoremediator plant absorb, accumulate, concentrate, sequester and tolerate contaminants (Nagajyoti et al., 2010; Yadav et al., 2021; Afifudin et al., 2022). In the range of concentrations examined in our study, cadmium was found to be the least toxic, exhibiting no adverse effects on health parameters. In contrast, arsenic demonstrated negative effects at higher concentrations, while iron exhibited the highest toxicity at the lowest concentrations. Within these limits, our results showed that the absorption and sequestration of carbon is ensured, as is the health of the plant. At these limits, eelgrass can bioaccumulate about 10.71 ± 3.76 $\mu\text{g/plant DW}$ for arsenic, 0.63 ± 0.35 $\mu\text{g/plant DW}$ for cadmium and $1\,560 \pm 725$ $\mu\text{g/plant DW}$ for iron. Extending this potential to the eelgrass bed of our reference site, the Bay of Sept-Îles (with an average density of 1 706 plants/m² and a meadow area of 27.42 km²; Carriere, 2018), this represents about 501.1 kg of arsenic, 29.53 kg of cadmium and 72 975 kg of iron bioaccumulated in eelgrass tissues for the entire eelgrass beds.

Eelgrass does not tolerate all metals equally, and so metal cocktails present in sediments under real coastal conditions could alter its phytoremediation potential and tolerance. However, subarctic environmental conditions may be an advantage for the use of eelgrass in phytoremediation. According to Qiao et al. (2022), temperature plays an important role in metal toxicity. They compared the effects of cadmium and copper on

Z. marina at two different temperatures (5°C and 20°C) and found that the lowest temperature limited metal damage. During our experiment, seawater from the St. Lawrence estuary was always below 10.5°C. Thus, subarctic environmental conditions could be advantageous for metal phytoremediation. More field studies should be conducted to confirm such phytoremediation potential in cold temperate and subarctic environments.

We showed that eelgrass is a great alternative and a significant sink for metal contaminants and carbon. In the case of iron, however, it is important to note that high concentrations can easily be reached in some polluted areas (e.g. port areas) and increased, by changes in the composition of the environment. For example, in the Arctic, climate change-driven permafrost thaw disrupts mineral chemical weathering, enhances microbial reduction of soil iron, and facilitates the transport of metals via groundwater to aquatic systems (O'Donnell et al., 2024). As a result, iron concentrations are rising, with ecological impacts that remain unknown. Our study underscores the need to closely monitor the effects of iron on coastal ecosystems.

Finally, before eelgrass can be used for phytoremediation, further site-specific studies are required to assess contaminant concentrations and evaluate the feasibility of this method. And, to reduce the risk of contamination transfer, the collection and treatment of contaminated leaves should be considered to prevent the release of absorbed metals during tissue decomposition or potential trophic transfer (Brix & Lyngby, 1982; Hosokawa et al., 2016; Lee et al., 2019; Xu et al., 2024).

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was funded by the Réseau Québec Maritime (RQM) and a grant from the Institut Nordique de Recherche en Environnement et en Santé au Travail (INREST) and the Port of Sept-Îles. We would like to thank Julie Carrière, director of INREST, and her team who helped us in the field. We thank Laurence Bisson, Sandrine Picotte and Gwenn Duval for their help in the laboratory and in the field. We thank Marie-Eve Anglehart and Steeven Ouellet from the Université du Québec à Rimouski and Catherine Tremblay and David Simard from the Université du Québec à Chicoutimi for their technical supports and advice.

ASSOCIATED CONTENT



Figure S 1: Coastal ecosystems and human activities of the Bay of Sept-Îles (Québec, Canada). Eelgrass beds are represented by the hatched surface. Adapted from Plateforme cartographique SIGEC Web. URL : carto - Serveur CartoVista - Portail Web).



Figure S 2: Experimental setup to maintain eelgrass plants in running seawater during exposure to contaminated sediment. Copyright Cloé Falcoz.

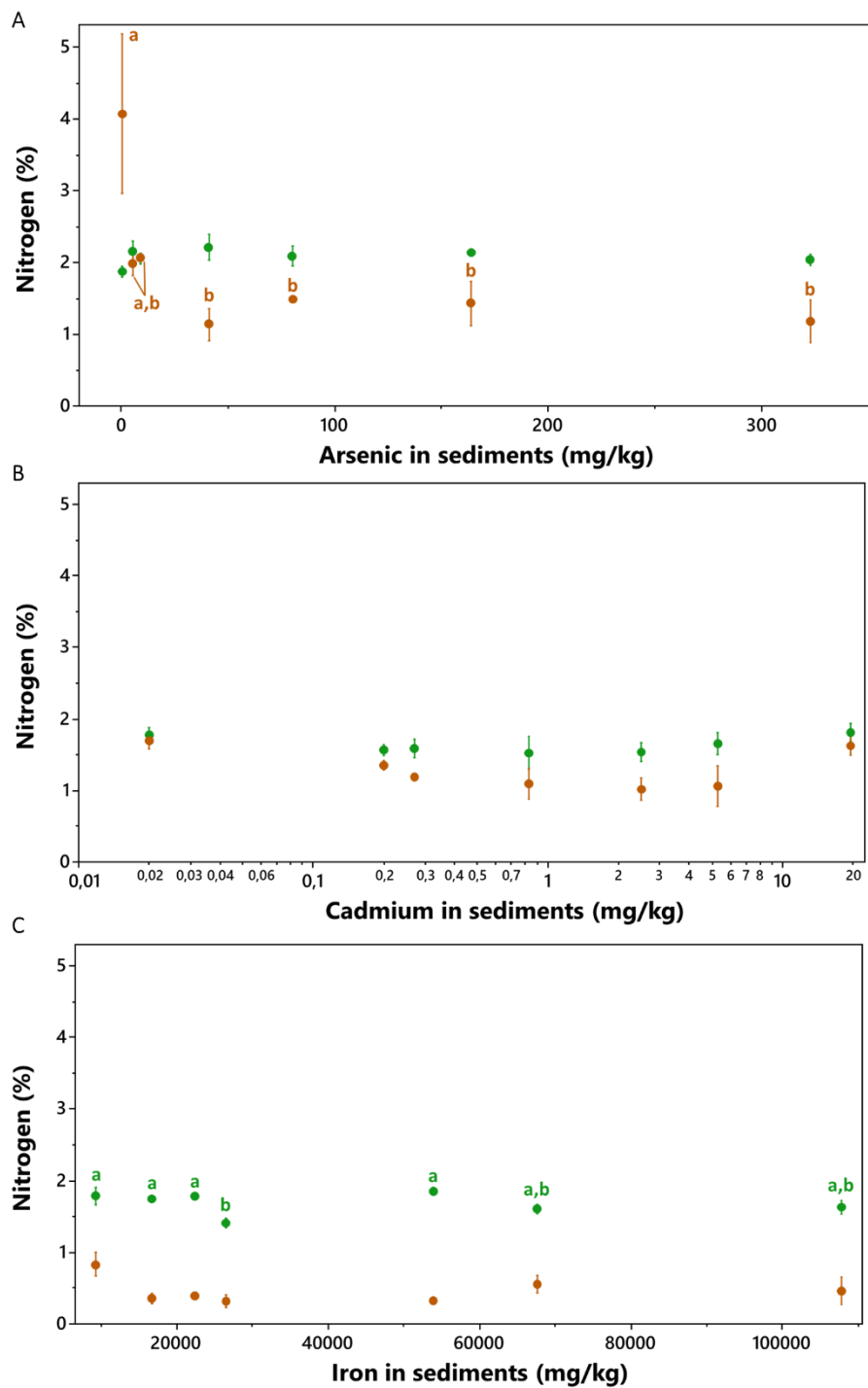


Figure S 3: Average ($\pm$ SE) of the percentage of nitrogen content in leaves (green) and roots (brown) across enriched treatments levels of arsenic (A), cadmium (B, scale is logarithmic) and iron (C) in sediments (mg/kg DW). Different letters above averages indicate significant differences ($p < 0.05$).

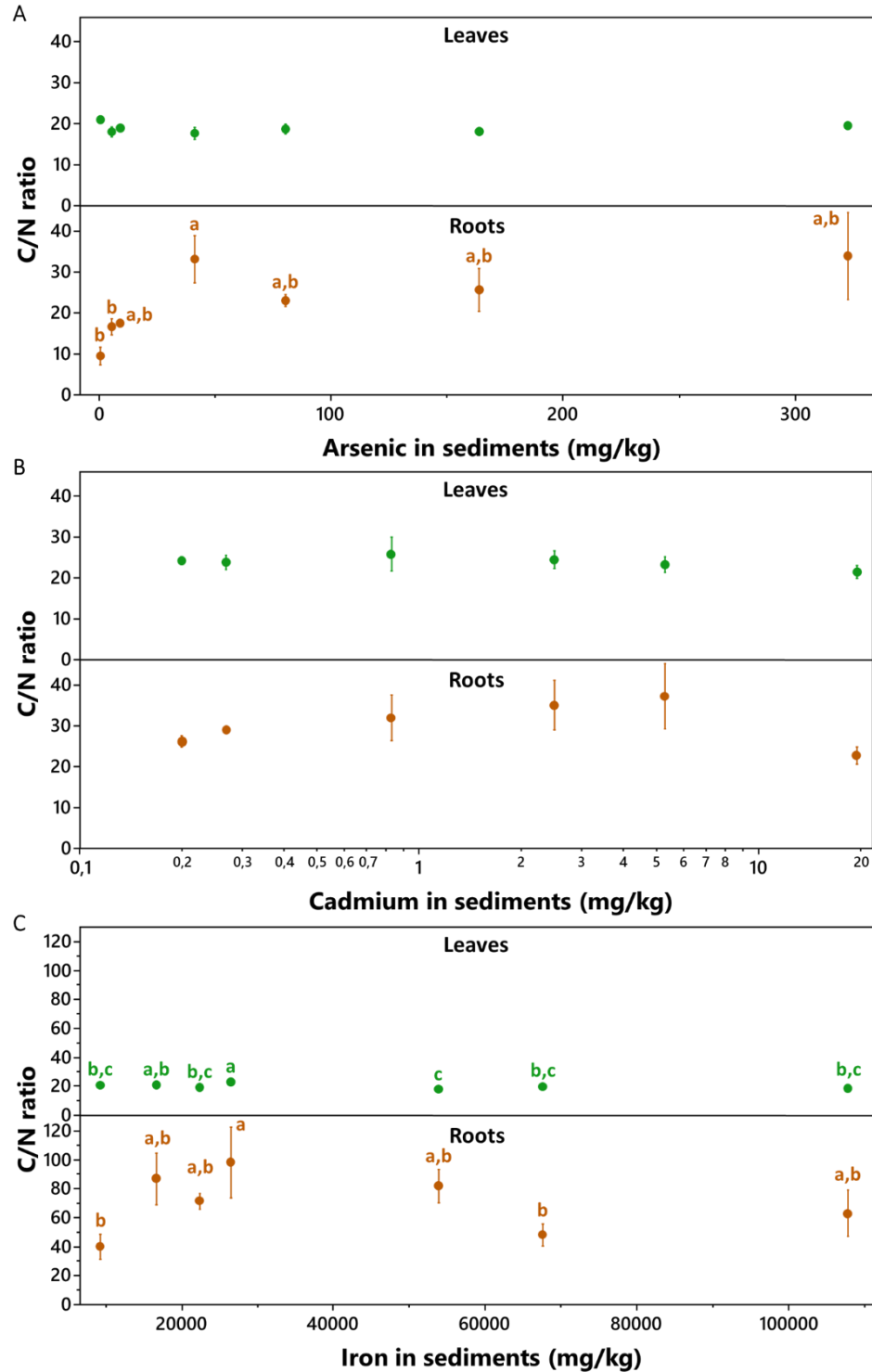


Figure S 4: Average ($\pm$ SE) of C/N ratio in leaves (green) and roots (brown) across enriched treatments levels of arsenic (A), cadmium (B, scale is logarithmic) and iron (C) in sediments (mg/kg DW). Different letters above averages indicate significant differences ($p < 0.05$).

Table S1: Average ($\pm$ SE) chlorophyll a and b concentrations in the leaves of eelgrass plants exposed to contaminated sediments under controlled laboratory conditions (mg/g DW). Different letters above averages indicate significant ($p < 0.05$) differences.

Metal	Sediment concentration (mg/kg)	Chl <i>a</i> (mg/g)	Chl <i>b</i> (mg/g)
Cadmium	0.02	1.78 ± 0.42^b	0.57 ± 0.15^b
	0.20	1.78 ± 0.58^b	0.56 ± 0.20^b
	0.27	$2.68 \pm 0.58^{a,b}$	$0.89 \pm 0.19^{a,b}$
	0.83	$2.42 \pm 0.19^{a,b}$	$0.79 \pm 0.08^{a,b}$
	2.50	4.89 ± 1.62^a	1.44 ± 0.36^a
	5.30	$2.85 \pm 0.23^{a,b}$	$0.94 \pm 0.08^{a,b}$
	19.50	$3.04 \pm 0.61^{a,b}$	$1.01 \pm 0.19^{a,b}$
Arsenic	0.66	3.63 ± 0.83	1.19 ± 0.32
	5.55	4.71 ± 0.95	1.48 ± 0.29
	9.14	3.98 ± 0.77	1.26 ± 0.21
	41.24	3.10 ± 0.38	0.92 ± 0.13
	80.39	3.86 ± 0.16	1.20 ± 0.06
	163.79	3.88 ± 1.12	1.20 ± 0.35
	322.58	3.45 ± 0.66	1.06 ± 0.17
Iron	9300	2.26 ± 0.21^a	0.69 ± 0.07^a
	16700	1.70 ± 0.12^a	0.50 ± 0.04^b
	22400	0.79 ± 0.26^b	0.19 ± 0.08^c
	26500	0.83 ± 0.15^b	0.21 ± 0.05^c
	53900	0.48 ± 0.16^b	0.08 ± 0.05^c
	67600	1.27 ± 0.84^b	0.33 ± 0.28^c
	107800	0.68 ± 0.27^b	0.10 ± 0.05^c

Table S2: Summary of ANOVA showing the effects of metal sediment enrichment (As, Cd, Fe) factors on the eelgrass relative growth. Significant p-values are shown in bold.

Variable / Source of variation	df	MS	F ratio	p
Arsenic				
Treatment	6	0.741	5.215	<0.001
Residual	52	0.142		
Corrected total	58			
Cadmium				
Treatment	6	0.191	0.974	0.452
Residual	54	0.197		
Corrected total	60			
Iron				
Treatment	6	2.368	19.519	<0.001
Residual	39	0.121		
Corrected total	45			

Table S3: Summary of ANOVA showing the effects of metal sediment enrichment (As, Cd, Fe) factors on the eelgrass leaf chlorophyll *a* content. Significant p-values are shown in bold.

Variable / Source of variation	df	MS	F ratio	p
Arsenic				
Treatment	6	7.540×10^{-7}	1.312	0.315
Residual	14	5.749×10^{-7}		
Corrected total	20			
Cadmium				
Treatment	6	1.666×10^{-6}	4.412	0.012
Residual	13	3.777×10^{-7}		
Corrected total	19			
Iron				
Treatment	6	1.068×10^{-6}	27.289	<0.001
Residual	9	3.914×10^{-8}		
Corrected total	15			

Table S4: Summary of ANOVA showing the effects of metal sediment enrichment (As, Cd, Fe) factors on the eelgrass leaf chlorophyll *b* content. Significant p-values are shown in bold.

Variable / Source of variation	df	<i>MS</i>	<i>F</i> ratio	<i>p</i>
Arsenic				
Treatment	6	8.815×10^{-8}	1.525	0.241
Residual	14	5.781×10^{-8}		
Corrected total	20			
Cadmium				
Treatment	6	1.928×10^{-7}	4.693	0.009
Residual	13	4.108×10^{-8}		
Corrected total	19			
Iron				
Treatment	6	1.316×10^{-7}	44.390	<0.001
Residual	9	2.964×10^{-9}		
Corrected total	15			

Table S5: Summary of ANOVA showing the effects of metal sediment enrichment (As, Cd, Fe) factors on the eelgrass leaf chlorophyll *a/b* ratio. Significant p-values are shown in bold.

Variable / Source of variation	df	<i>MS</i>	<i>F</i> ratio	<i>p</i>
Arsenic				
Treatment	6	0.024	3.927	0.016
Residual	14	0.006		
Corrected total	20			
Cadmium				
Treatment	6	0.045	0.913	0.514
Residual	14	0.049		
Corrected total	20			
Iron				
Treatment	6	4.039	9.044	0.002
Residual	9	0.447		
Corrected total	15			

Table S6: Summary of ANOVA showing the effects of metal sediment enrichment (As, Cd, Fe) factors on the metal concentrations in eelgrass tissues. Significant p-values are shown in bold.

Variable / Source of variation	df	MS	F ratio	p
Arsenic in leaves				
Treatment	6	20.477	103.403	<0.001
Residual	33	0.198		
Corrected total	39			
Arsenic in roots				
Treatment	6	20.777	197.523	<0.001
Residual	33	0.105		
Corrected total	39			
Cadmium in leaves				
Treatment	6	3.285	23.040	<0.001
Residual	33	0.143		
Corrected total	39			
Cadmium in roots				
Treatment	6	7.169	125.584	<0.001
Residual	35	0.057		
Corrected total	41			
Iron in leaves				
Treatment	6	24.093	197.814	<0.001
Residual	35	0.122		
Corrected total	41			
Iron in roots				
Treatment	6	8.543	143.312	<0.001
Residual	35	0.060		
Corrected total	41			

Table S7: Summary of ANOVA showing the effects of metal sediment enrichments (As, Cd, Fe) factors on the percentage of carbon content in tissues. Significant p-values are shown in bold.

Variable / Source of variation	df	MS	F ratio	p
Leaves (As)				
Treatment	6	0.519	2.142	0.113
Residual	14	0.242		
Corrected total	20			
Roots (As)				
Treatment	6	4.617	1.782	0.175
Residual	14	2.591		
Corrected total	20			
Leaves (Cd)				
Treatment	6	0.956	6.202	0.002
Residual	14	0.154		
Corrected total	20			
Roots (Cd)				
Treatment	6	4.551	1.640	0.209
Residual	14	2.776		
Corrected total	20			
Leaves (Fe)				
Treatment	6	17.638	8.424	<0.001
Residual	14	2.094		
Corrected total	20			
Roots (Fe)				
Treatment	6	23.494	6.920	0.002
Residual	14	3.395		
Corrected total	20			

Table S8: Summary of ANOVA showing the effects of metal sediment enrichments (As, Cd, Fe) factors on the percentage of nitrogen content in tissues. Significant p-values are shown in bold.

Variable / Source of variation	df	MS	F ratio	p
Leaves (As)				
Treatment	6	0.036	0.945	0.494
Residual	14	0.039		
Corrected total	20			
Roots (As)				
Treatment	6	3.129	4.842	0.007
Residual	14	0.646		
Corrected total	20			
Leaves (Cd)				
Treatment	6	0.040	0.663	0.681
Residual	14	0.061		
Corrected total	20			
Roots (Cd)				
Treatment	6	0.228	2.828	0.051
Residual	14	0.081		
Corrected total	20			
Leaves (Fe)				
Treatment	6	0.068	4.325	0.011
Residual	14	0.016		
Corrected total	20			
Roots (Fe)				
Treatment	6	0.100	2.472	0.076
Residual	14	0.040		
Corrected total	20			

Table S9: Summary of ANOVA showing the effects of metal sediment enrichments (As, Cd, Fe) factors on the C/N tissues ratio. Significant p-values are shown in bold.

Variable / Source of variation	df	MS	F ratio	p
Leaves (As)				
Treatment	6	3.854	1.351	0.300
Residual	14	2.853		
Corrected total	20			
Roots (As)				
Treatment	6	170.99	5.145	0.007
Residual	14	33.062		
Corrected total	20			
Leaves (Cd)				
Treatment	6	6.923	0.485	0.809
Residual	14	14.277		
Corrected total	20			
Roots (Cd)				
Treatment	6	115.388	1.910	0.149
Residual	14	60.425		
Corrected total	20			
Leaves (Fe)				
Treatment	6	8.702	4.438	<0.001
Residual	14	1.961		
Corrected total	20			
Roots (Fe)				
Treatment	6	1325.40	2.128	0.010
Residual	14	622.70		
Corrected total	20			

Table S10: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment arsenic enrichment on arsenic concentrations in eelgrass leaves (A) and roots (B). Significant differences are shown in bold.

A. Comparisons for leaves

Treatment	Treatment	<i>p</i> -value
1	Control	0.337
2	Control	<0.001
2	1	0.069
3	Control	<0.001
3	1	<0.001
3	2	<0.001
3	6	0.141
3	5	0.481
4	Control	<0.001
4	1	<0.001
4	2	<0.001
4	6	<0.001
4	5	<0.001
4	3	<0.001
5	Control	<0.001
5	1	<0.001
5	2	<0.001
5	6	0.999
6	Control	<0.001
6	1	<0.001
6	2	<0.001

B. Comparisons for roots

Treatment	Treatment	<i>p</i> -value
1	Control	<0.001
2	Control	<0.001
2	1	<0.001
3	Control	<0.001
3	1	<0.001
3	2	<0.001
3	5	<0.001
3	6	<0.001
4	Control	<0.001
4	1	<0.001
4	2	<0.001
4	3	0.142
4	5	<0.001
4	6	<0.001
5	Control	<0.001
5	1	<0.001
5	2	0.999
6	Control	<0.001
6	1	<0.001
6	2	0.006
6	5	0.081

Table S11: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment cadmium enrichment on cadmium concentrations in eelgrass leaves (A) and roots (B). Significant differences are shown in bold.

A. Comparisons for leaves

Treatment	Treatment	p-value
4	1	<.0001
4	Control	<.0001
5	1	<.0001
4	2	<.0001
5	Control	<.0001
5	2	<.0001
4	3	0.0002
4	6	0.0043
5	3	0.0053
6	1	0.0191
6	Control	0.0252
5	6	0.0632
3	1	0.0320
3	Control	0.0430
6	2	0.2163
3	2	0.3773
2	1	0.8787
4	5	0.8917
2	Control	0.9227
6	3	0.9975
Control	1	1.0000

B. Comparisons for roots

Treatment	Treatment	p-value
1	Control	0.9261
2	Control	0.8798
2	1	1.0000
3	Control	<.0001
3	1	<.0001
3	2	<.0001
4	Control	<.0001
4	1	<.0001
4	2	<.0001
4	3	<.0001
4	5	0.8431
5	Control	<.0001
5	1	<.0001
5	2	<.0001
5	3	<.0001
6	Control	<.0001
6	1	<.0001
6	2	<.0001
6	3	<.0001
6	5	<.0001
6	4	0.0002

Table S12: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment iron enrichment on iron concentrations in eelgrass leaves (A) and roots (B). Significant differences are shown in bold.

A. Comparisons for leaves

Treatment	Treatment	p-value
1	Control	<.0001
2	Control	<.0001
2	1	0.0005
3	Control	<.0001
3	1	<.0001
3	2	0.0014
4	Control	<.0001
4	1	<.0001
4	2	<.0001
4	3	0.4244
5	Control	<.0001
5	1	<.0001
5	2	<.0001
5	3	0.3007
5	4	1.0000
6	Control	<.0001
6	1	<.0001
6	2	<.0001
6	3	0.0017
6	4	0.2303
6	5	0.3372

B. Comparisons for roots

Treatment	Treatment	p-value
1	Control	<.0001
2	Control	<.0001
2	1	0.8902
3	Control	<.0001
3	1	<.0001
3	2	0.0005
4	Control	<.0001
4	1	<.0001
4	2	<.0001
4	3	0.0002
4	5	1.0000
5	Control	<.0001
5	1	<.0001
5	2	<.0001
5	3	0.0003
6	Control	<.0001
6	1	<.0001
6	2	<.0001
6	3	<.0001
6	5	0.0188
6	4	0.0278

Table S13: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment arsenic enrichment on relative growth. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
Control	6	0.0011
Control	5	0.2728
Control	4	0.6231
Control	1	0.6621
Control	3	0.8466
1	6	0.0740
1	5	0.9938
1	4	1.0000
2	6	0.0001
2	5	0.0665
2	4	0.2425
2	1	0.2715
2	3	0.4736
2	Control	0.9971
3	6	0.0457
3	5	0.9645
3	4	0.9998
3	1	0.9999
4	6	0.0850
4	5	0.9964
5	6	0.2724

Table S14: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment iron enrichment on relative growth. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
Control	6	<.0001
Control	5	<.0001
Control	4	<.0001
Control	3	<.0001
Control	2	0.0014
Control	1	0.9311
1	6	<.0001
1	5	<.0001
1	4	0.0003
1	3	0.0008
1	2	0.0619
2	6	0.0080
2	5	0.0153
2	4	0.3225
2	3	0.4256
3	6	0.7908
3	5	0.8499
3	4	1.0000
4	6	0.7886
4	5	0.8519
5	6	1.0000

Table S15: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment cadmium enrichment on chlorophyll *a* concentration in leaves. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
Control	1	1.0000
2	1	0.5693
2	Control	0.5701
2	3	0.9981
3	1	0.8476
3	Control	0.8481
4	1	0.0115
4	Control	0.0115
4	3	0.0836
4	2	0.1767
4	5	0.2805
4	6	0.4304
5	1	0.3816
5	Control	0.3822
5	3	0.9720
5	2	0.9998
6	1	0.2307
6	Control	0.2311
6	3	0.8708
6	2	0.9893
6	5	0.9997

Table S16: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment iron enrichment on chlorophyll *a* concentration in leaves. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
Control	4	<.0001
Control	6	<.0001
Control	5	0.0002
Control	2	0.0003
Control	3	0.0003
Control	1	0.1117
1	4	0.0033
1	6	0.0039
1	5	0.0142
1	2	0.0153
1	3	0.0198
2	4	0.8777
2	6	0.9940
2	5	1.0000
3	4	0.7937
3	6	0.9742
3	5	1.0000
3	2	1.0000
5	4	0.8992
5	6	0.9966
6	4	0.9899

Table S17: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment cadmium enrichment on chlorophyll *b* concentration in leaves. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
2	1	0.4898
2	Control	0.5040
2	3	0.9963
3	1	0.8132
3	Control	0.8254
4	1	0.0095
4	Control	0.0099
4	3	0.0779
4	2	0.1813
4	5	0.2819
4	6	0.4452
5	1	0.3232
5	Control	0.3346
5	3	0.9632
5	2	0.9998
6	1	0.1829
6	Control	0.1903
6	3	0.8369
6	2	0.9883
6	5	0.9996
Control	1	1.0000

Table S18: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment iron enrichment on chlorophyll *b* concentration in leaves. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
Control	6	<.0001
Control	4	<.0001
Control	5	<.0001
Control	2	<.0001
Control	d	<.0001
1	6	0.0003
1	4	0.0006
1	5	0.0024
1	2	0.0035
1	3	0.0060
Control	1	0.0469
3	6	0.4007
3	4	0.4968
2	6	0.6474
2	4	0.7311
5	6	0.8243
5	4	0.8773
3	5	0.9846
3	2	0.9991
2	5	0.9999
4	6	1.0000

Table S19: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment arsenic enrichment on chlorophyll ratio a/b in leaves. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
1	Control	0.6235
1	2	0.9991
2	Control	0.8634
3	Control	0.0060
3	2	0.0576
3	1	0.1264
3	4	0.2694
3	5	0.3032
3	6	0.4826
4	Control	0.3587
4	2	0.9590
4	1	0.9987
5	Control	0.3207
5	2	0.9400
5	1	0.9969
5	4	1.0000
6	Control	0.1877
6	2	0.8011
6	1	0.9614
6	4	0.9992
6	5	0.9998

Table S20: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment iron enrichment on chlorophyll ratio *a/b* in leaves. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
1	Control	1.0000
2	Control	0.6462
2	1	0.8006
2	3	0.9971
3	Control	0.9207
3	1	0.9747
4	Control	0.0993
4	1	0.1793
4	3	0.4948
4	2	0.7851
4	5	0.9700
5	Control	0.3466
5	1	0.5107
5	3	0.9151
5	2	0.9970
6	Control	0.0016
6	1	0.0043
6	3	0.0138
6	2	0.0311
6	5	0.0719
6	4	0.2607

Table S21: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment arsenic enrichment on ratio C/N in roots. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
1	Control	0.7289
2	Control	0.6279
2	1	1.0000
3	Control	0.0032
3	1	0.0447
3	2	0.0607
3	4	0.3766
3	6	0.5283
3	5	0.6785
4	Control	0.1306
4	1	0.8130
4	2	0.8894
5	Control	0.0522
5	1	0.5089
5	2	0.6108
5	4	0.9974
5	6	0.9993
6	Control	0.1920
6	1	0.8518
6	2	0.9124
6	4	1.0000

Table S22: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment iron enrichment on ratio C/N in leaves (A) and roots (B). Significant differences are shown in bold.

A. Comparisons for leaves

Treatment	Treatment	p-value
Control	4	0.8708
Control	6	0.9881
Control	2	1.0000
1	4	0.0430
1	6	0.1110
1	2	0.3703
1	Control	0.4915
1	5	0.7673
2	4	0.8083
2	6	0.9798
3	4	0.0007
3	6	0.0016
3	2	0.0063
3	Control	0.0149
3	5	0.0222
3	1	0.2453
5	4	0.4103
5	6	0.7239
5	2	0.9885
5	Control	0.9938
6	4	0.9970

B. Comparisons for roots

Treatment	Treatment	p-value
1	Control	0.1341
1	5	0.2839
1	6	0.7676
1	2	0.9584
1	4	0.9999
2	Control	0.4999
2	5	0.7786
2	6	0.9982
3	Control	0.0081
3	5	0.0175
3	6	0.0726
3	2	0.1533
3	4	0.3513
3	1	0.4914
4	Control	0.2160
4	5	0.4250
4	6	0.9032
4	2	0.9942
5	Control	0.9985
6	Control	0.7855
6	5	0.9625

Table S23: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment cadmium enrichment on the percentage of carbon content in leaves. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
Control	4	0.0048
Control	2	0.0530
Control	3	0.0554
Control	1	0.2387
Control	5	0.6477
Control	6	1.0000
1	4	0.3403
1	2	0.9657
1	1	0.9700
2	4	0.8306
3	4	0.8188
3	2	1.0000
5	4	0.0961
5	2	0.6164
5	3	0.6311
5	1	0.9796
6	4	0.0058
6	2	0.0634
6	3	0.0663
6	1	0.2771
6	5	0.7060

Table S24: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment iron enrichment on the percentage of carbon content in leaves (A) and roots (B). Significant differences are shown in bold.

A. Comparisons for leaves

Treatment	Treatment	p-value
Control	6	0.0012
Control	5	0.0134
Control	3	0.0368
Control	4	0.1686
Control	2	0.4674
Control	1	1.0000
1	6	0.0014
1	5	0.0156
1	3	0.0428
1	4	0.1927
1	2	0.5147
2	6	0.0408
2	5	0.3705
2	3	0.6801
2	4	0.9886
3	6	0.4997
3	5	0.9972
4	6	0.1427
4	5	0.7723
4	3	0.9692
5	6	0.8115

B. Comparisons for roots

Treatment	Treatment	p-value
Control	6	0.0426
Control	5	0.1342
Control	4	0.4224
Control	3	0.5593
Control	2	0.9076
Control	1	0.9337
1	6	0.2453
1	5	0.5711
1	4	0.9420
1	3	0.9845
1	2	1.0000
2	6	0.2780
2	5	0.6210
2	4	0.9611
2	3	0.9915
3	6	0.6331
3	5	0.9392
3	4	1.0000
4	6	0.7713
4	5	0.9833
5	6	0.9928

Table S25: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment arsenic enrichment on the percentage of nitrogen content in roots. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
Control	6	0,0042
Control	3	0,0045
Control	5	0,0212
Control	4	0,0373
Control	2	0,2279
2	6	0,2434
2	3	0,2574
Control	2	0,3024
1	6	0,3214
1	3	0,3384
2	5	0,6986
1	5	0,8024
2	4	0,8571
4	6	0,8830
4	3	0,8970
1	4	0,9270
5	6	0,9686
5	3	0,9745
4	5	0,9999
2	1	1,0000
3	6	1,0000

Table S26: Summary of Tukey HSD post hoc test on the effect of sediment iron enrichment on the percentage of nitrogen content in leaves. Significant differences are shown in bold.

Treatment	Treatment	p-value
Control	3	0,0270
Control	5	0,6612
Control	6	0,7778
Control	1	0,9999
1	3	0,0485
1	5	0,8339
1	6	0,9161
2	3	0,0236
2	5	0,6178
2	6	0,7381
2	1	0,9996
2	Control	1,0000
4	3	0,0081
4	5	0,3060
4	6	0,4052
4	1	0,9483
4	Control	0,9927
4	2	0,9961
5	3	0,3948
6	3	0,2974
6	5	1,0000

CHAPITRE 2

EXPÉRIENCE DE TRANSPLANTATION EN MILIEUX CONTAMINÉS AFIN DE VÉRIFIER LE POTENTIEL DE PHYTOREMÉDIATION DE LA ZOSTÈRE MARINE

MISE EN CONTEXTE

Pour mettre en œuvre la phytoremédiation en zone côtière, il est nécessaire de végétaliser la zone ciblée en y implantant des plants issus soit d'un autre herbier sain, soit d'une culture spécifique, ce qui implique une phase de récolte préalable à la transplantation.

Dans le cadre de ce projet de recherche, nous avons mené une expérience de transplantation afin de compléter les données obtenues en laboratoire et de les confronter à des résultats recueillis en conditions réelles. Pour cela, une zone d'expérimentation a été choisie : la baie de Sept-Îles, située sur la côte nord du golfe du Saint-Laurent (Québec, Canada) (Figure 10).

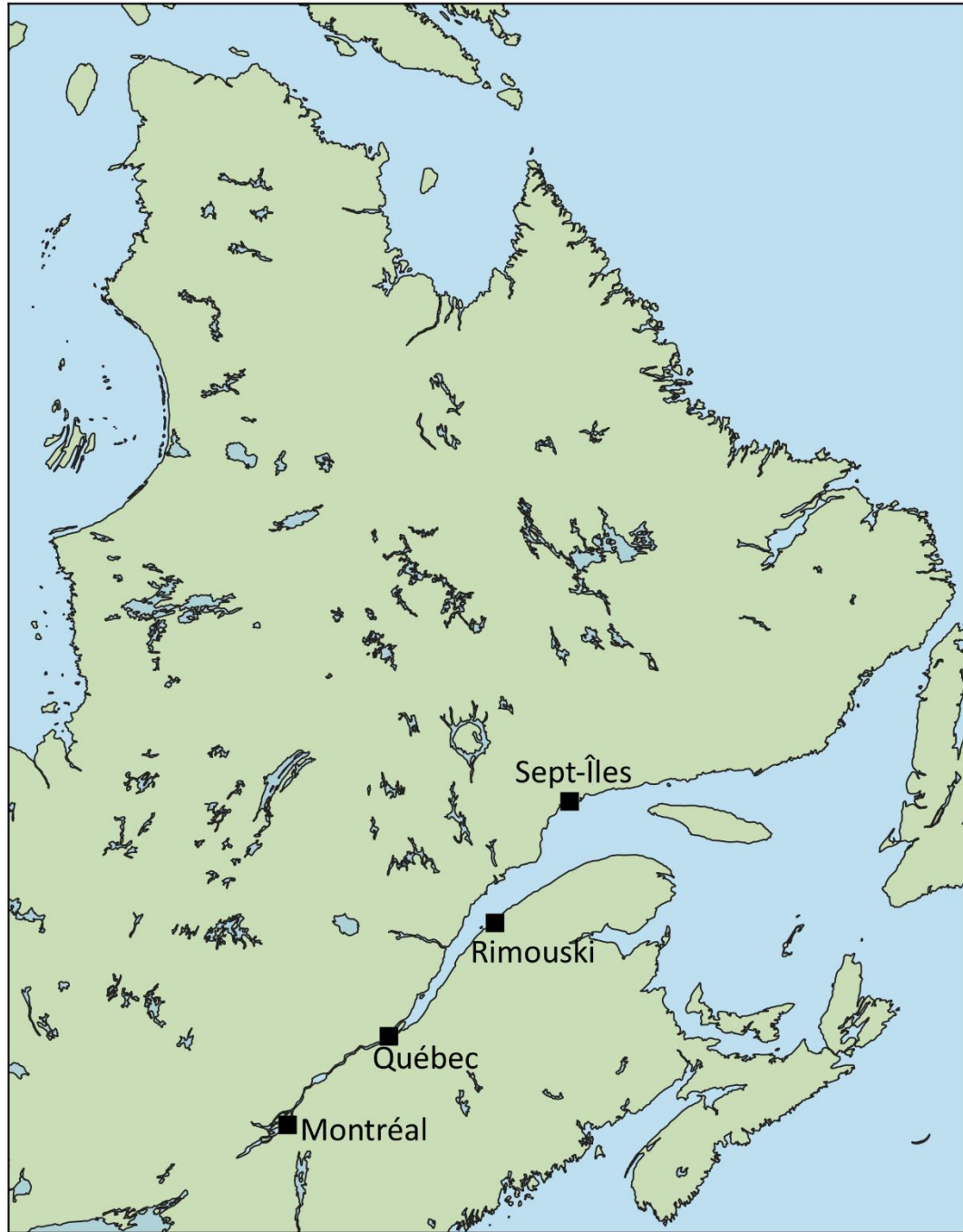


Figure 10: Carte situant la baie de Sept-Îles, à l'échelle de la province du Québec, site de l'expérience de transplantation.

La baie de Sept-Îles abrite des herbiers de zostère marine qui présentent une grande diversité écologique, influencée notamment par la proximité des activités humaines. Ces écosystèmes marins subissent une pression significative en raison de la présence d'industries, d'une zone urbaine de plus de 20 000 habitants, et d'une infrastructure portuaire majeure, sources de contaminants et de perturbations écologiques (Figure 11).



Figure 11: Localisation des sites utilisés pour l'expérience de transplantation de zostère en milieu naturel dans la baie de Sept-Îles. Le site donneur est identifié par le repère jaune et le site receveur par le repère rouge. Les flèches pointent les activités anthropiques présentes dans la baie. Les herbiers marins sont représentés par les zones hachurées. Adapté de la Plateforme cartographique Système Intégré de Gestion de l'Environnement Côtier (SIGEC Web). URL : [carto - Serveur CartoVista - Portail Web](#)

Des niveaux élevés de contamination en métaux ont été relevés dans certaines parties de la baie, tant dans les sédiments des eaux profondes que dans les zones côtières (Carrière, 2018; Dreujou et al., 2020). Parmi ces métaux et métalloïdes, l'arsenic, le cadmium et le fer se distinguent par leurs concentrations élevées. L'arsenic et le cadmium, bien que non essentiels aux organismes vivants, sont reconnus pour leur forte toxicité sur les écosystèmes marins (Faburé et al., 2022). Quant au fer, bien qu'il soit un métal essentiel dans les processus

cellulaires, ses niveaux élevés dans les sédiments de la baie sont attribués à l'exploitation et au transport des minerais extraits plus au nord, via le port de Sept-Îles.

Malgré cette pression anthropique, l'herbier de zostère marine de la baie demeure l'un des plus vastes du système marin du Saint-Laurent (Lemieux & Lalumière, 1995; Araùjo, 2023).

OBJECTIF

L'objectif de ce volet était de transplanter des plants de zostère marine issus d'un herbier en bonne santé, caractérisé par de faibles concentrations en métaux, vers un herbier plus clairsemé avec un site historiquement impacté par la présence humaine, où les concentrations en métaux sont potentiellement plus élevées dans les sédiments de surface. Cette expérience visait à évaluer l'effet de la bioaccumulation chez la zostère marine après transplantation depuis un autre site, en analysant les impacts potentiels sur sa physiologie. D'autre part, cette démarche permettait d'estimer et d'anticiper l'ampleur du travail nécessaire pour mettre en œuvre des projets de phytoremédiation en zone côtière, tout en prenant en compte les contraintes spécifiques des zones intertidales, telles que les marées et d'autres défis environnementaux.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1.17 Méthode de transplantation et de suivi

Nous avons réalisé une expérience de transplantation entre deux sites ayant des niveaux de contamination différents dans la baie à l'été 2022. Le premier site, appelé « site donneur », présentant un herbier en bonne santé avec des concentrations en cadmium et arsenic dans les sédiments plus faibles que les seuils d'effets occasionnels, a été choisi pour prélever les plants de zostère et faire la transplantation témoin (Tableau 3) (Environnement Canada et al., 2007). Bien qu'aucun seuil d'effet ne soit établi pour le fer, les concentrations y étaient également parmi les plus faibles de la baie, renforçant notre choix.

Tableau 3: Concentrations moyennes en arsenic, cadmium et fer présentent dans les sédiments prélevés aux deux sites de transplantation dans la baie de Sept-Îles (mg/kg PS)

Site	Arsenic (mg/kg)	Cadmium (mg/kg)	Fer (mg/kg)
Donneur	0,66	0,020	9 300
Receveur	6,32	0,055	12 630

Il est situé plus loin du centre urbain (9 km) et la zone portuaire (10 km). Le deuxième site, appelé « site receveur », a été sélectionné pour la présence d'un herbier clairsemé et des concentrations métalliques plus importantes, due à sa proximité historique avec le centre urbain (moins de 1 km) et la zone portuaire (2,4 km) (Figure 11).

Les expériences de transplantation de plants ont été réalisées les 14 et 15 juin 2022. Des plants de tailles similaires, c'est-à-dire ayant des feuilles intactes d'environ 25 cm et un rhizome d'environ 4 cm, ont été prélevés à la main dans l'herbier donneur. Les plants ont été marqués en utilisant la méthode du plastochrone (Gaeckle & Short, 2002) pour mesurer la croissance (Figure 12).



Figure 12: Photo illustrant la méthode de marquage avec une punaise pour mesurer la croissance des plants transplantés. Les zones marquées seront mesurées après 21 jours (Mathieu Cusson).

Le premier jour, 100 plants ont été cueillis et replantés à proximité sur le même site donneur dans deux quadrats (50/quadrat) pour servir de contrôle de la manipulation de transplantation. Le deuxième jour, 200 plants ont été collectés de la même manière, placés dans un seau avec de l'eau environnante puis transportés par la route jusqu'au site receveur, 16 km plus loin. Une fois sur place, ils ont été marqués pour la croissance et replantés dans quatre quadrats (Figure 13).

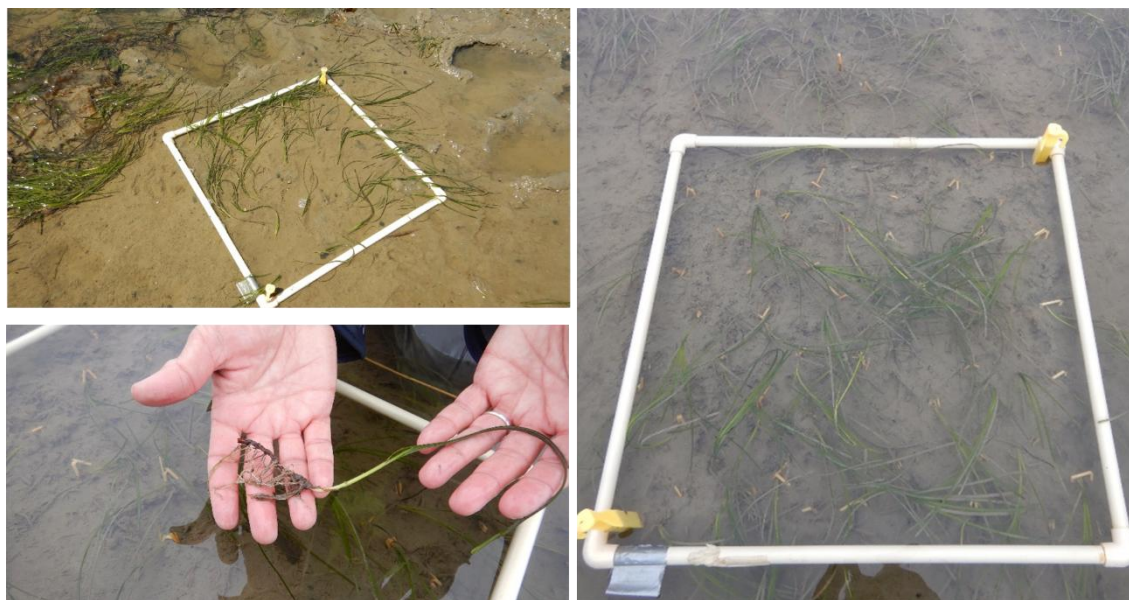


Figure 13: Photos montrant les quadrats réalisés avec les plants de zostère marine lors de l'expérience de transplantation (Cloé Falcoz).

Après 21 et 65 jours, les deux sites ont été visités et 15 plants ont été récoltés par quadrats. Ils ont été placés dans des sacs de plastiques contenant de l'eau environnante et mis sur glace jusqu'au retour au laboratoire. Les plants ont ensuite été rincés, la croissance mesurée (seulement après 21 jours) et les tissus séparés (rhizomes/racines, vieilles et nouvelles feuilles) puis placés au congélateur à -80°C jusqu'aux analyses.

1.1.18 Mesure de la croissance des plants

La croissance a été mesurée en suivant la méthode du plastochrone décrite dans Gaeckle and Short (2002). Après 21 jours, les mesures de croissance ont été faites sur les plants récoltés en mesurant la distance entre la marque d'origine toujours visible sur la tige et la marque présente sur les feuilles (Figure 14).

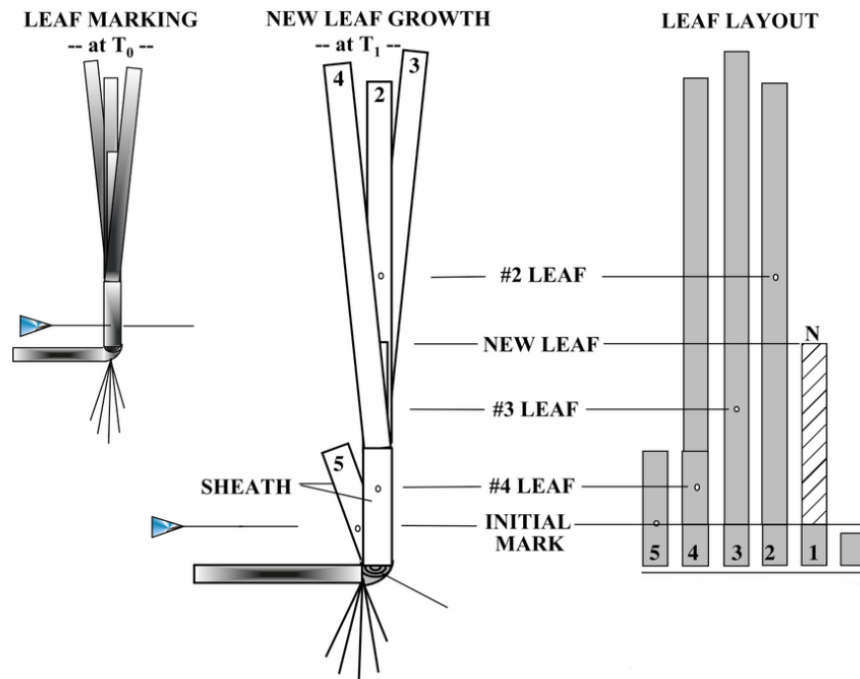


Figure 14: Illustration des étapes de la méthode du plastochrone (Gaeckle & Short, 2002).

Les mesures ont permis de calculer la croissance relative selon la formule suivante :

$$\text{Croissance relative (\%)} = \frac{\text{croissance absolue totale (mm)}}{\text{longueur totale (mm)}} * 100$$

Les marques de croissance ont été utilisées pour différencier les feuilles de zostère afin d'analyser d'autres paramètres. D'une part, les feuilles présentes lors de la transplantation, et donc marquées, seront appelées « vieilles feuilles ». D'autre part, les feuilles produites après la transplantation, sans marque, seront désignées par « nouvelles feuilles ».

1.1.19 Concentration en métaux dans les tissus de zostère

Toute vaisselle utilisée pour doser les métaux dans les zostères a été préalablement lavée à l'acide nitrique 10% puis rincée à l'eau nanopure.

Environ 50 mg de tissus lyophilisés et homogénéisés ont été placés dans des tubes en verre pour faire une digestion acide inspirée de la méthode de Brix et al. (1983) et Krishnamurty and MM (1976). Un millilitre d'acide nitrique concentré (grade Trace metal) et 0,5 mL de peroxyde d'hydrogène à 30% (grade Trace metal) ont été ajoutés aux tissus et la digestion s'est déroulée pendant 2 heures à 60°C sur un bloc chauffant. Une fois le temps écoulé, les tubes ont été retirés de la plaque et laissés refroidir sous la hotte. Les digestats ont été filtrés une première fois avec des filtres Whatman #42 puis une deuxième fois avec des filtres seringues PFTE (polytétrafluoroéthylène) de 45 mm de diamètre avec des pores de 0,25 µm. Les échantillons filtrés ont été placés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'analyse.

L'arsenic et le cadmium ont été dosés avec un spectromètre d'absorption atomique par four graphite (Agilent, Zeeman, AAS 240Z) et le fer avec un spectromètre d'émission atomique couplé par plasma micro-ondes (Agilent, MP-AES 4200). Les limites de détection des méthodes utilisées étaient de 7,61 µmol/L pour arsenic, 0,29 µmol/L pour cadmium et 2,37 mmol/L pour le fer. Des blancs de contrôles ont été faits et soustraits aux résultats des échantillons. Nous avons validé notre méthode d'extraction des métaux avec le matériel de référence NIST, 1944, New York/New Jersey Waterway Sediment. Nos concentrations mesurées sont inférieures à celles attendus dans le certificat, notre méthode étant volontairement moins agressive pour extraire les métaux labiles, disponibles pour les plantes (Tableau 4).

Tableau 4: Moyenne ($\pm$ SE) des concentrations en métaux mesurées et attendues dans le matériel certifié et l'erreur relative entre les deux mesures (PS)

Métaux	Résultats attendus (mg/kg)	Résultats obtenus (mg/kg)	Erreur relative (%)
<i>Arsenic</i>	18,9 $\pm$ 2,8	5,85 $\pm$ 0,55	- 69,05
<i>Cadmium</i>	8,8 $\pm$ 1,4	7,4 $\pm$ 0,5	- 15,45
<i>Fer (%)</i> *	3,53 $\pm$ 0,16	1,92 $\pm$ 0,04	- 45,61

*Fraction massique (%)

1.1.20 Pourcentage en carbone et en azote dans les tissus de zostère

Entre 3 et 4 mg de tissus lyophilisés ont été pesés puis encapsulés dans des capsules en étain (Elemental Microanalysis, 11,5 x 7 mm). Une fois tous les échantillons prêts, les analyses ont été réalisées à l'Université du Québec à Chicoutimi avec un analyseur élémentaire (FlashSmart Elemental Analyzer, Thermo Scientific). L'étalon BBOT CHNS de Thermo Scientific a été utilisé pour étalonner l'instrument. Les blancs ont été réalisés en n'introduisant aucun échantillon dans l'instrument pour voir si des gaz étaient mesurés. Les résultats obtenus étaient sous forme de pourcentages massiques de carbone et d'azote dans les tissus.

1.1.21 Teneur en chlorophylles dans les feuilles

L'extraction et la quantification de la chlorophylle *a* et *b* ont été réalisées selon les méthodes décrites par Israsena Na Ayudhya et al. (2015) et Warren (2008). Toutes les étapes du protocole ont été effectuées autant que possible dans l'obscurité. Brièvement, dans un tube en verre, 1 mL d'acétone 90% a été ajouté à 10 mg de tissus lyophilisés. Les tubes ont été placés au réfrigérateur à 4°C pendant toute une nuit, puis centrifugés à 3 100 RPM. Un volume de 400 μ L de surnageant a transféré dans une plaque à 96 puits pour analyse à l'aide d'un lecteur de microplaques (BioTek Synergy H1 Multimode Reader, Agilent). Les mesures d'absorbance ont été effectuées à deux longueurs d'onde différentes : 440 nm pour la

chlorophylle *a* et 460 nm pour la chlorophylle *b*. Une droite d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution préparée en laboratoire à partir d'un standard d'épinard (MilliporeSigma, chlorophylle *a* et *b* d'épinard). Les blancs de méthode ont été traités comme des échantillons et automatiquement soustraits par l'appareil.

1.1.22 Traitements statistiques

Toutes les données récoltées ont été traitées avec le logiciel JMP. Elles ont été comparées à l'aide d'une analyse de variance à deux facteurs : périodes (3 niveaux, fixes) et sites (2 niveaux, fixes). Les postulats de normalité et d'homoscédasticité de l'ANOVA ont été vérifiées par une analyse visuelle des résidus (Tableau S1 - Tableau S10) (Quinn & Keough, 2002; Montgomery, 2012). Une transformation $\log(x+1)$ a été appliquée pour les variables chlorophylle et concentration en métaux dans les tissus. Lorsqu'un facteur était significatif, les différences entre les moyennes étaient précisées avec le test HSD de Tukey (Tableau S11 - Tableau S18). Un seuil alpha α de 0,05 a été utilisé pour tous ces tests.

RÉSULTATS

1.1.23 Croissance des plants

La croissance des plants a été mesurée sur 8 individus par quadrat aux deux sites. L'analyse des données a montré que les zostères transplantées ont bien survécu à la manipulation, sans qu'aucune mortalité ne soit observée, même après 65 jours, à la fin de l'expérience. Aucune différence significative entre les moyennes de croissance relative n'a été détectée entre les sites ou entre les quadrats (Tableau S4). La croissance relative moyenne a été de $3,19 \pm 0,47$ % au site donneur pour les plants contrôles et de $3,17 \pm 0,33$ % au site receveur.

1.1.24 Concentration en arsenic, cadmium et fer dans les tissus

Les concentrations en métaux ont été mesurées dans les nouvelles feuilles après 21 et 65 jours, dans les vieilles feuilles à 0 jour puis après 21 jours et dans les rhizomes aux trois périodes (Figure 15). Les comparaisons ont été faites séparément pour chaque métal et

chaque tissu pour évaluer les variations entre les sites et les périodes d'échantillonnage. Les résultats des concentrations en métaux montrent des différences entre les périodes d'échantillonnage, mais pas nécessairement entre les sites.

Pour l'arsenic, aucune différence n'a été mesurée entre les deux sites pour les trois tissus et les mêmes tendances y sont observées (Tableau S1 ; Figure 15). Les concentrations dans les rhizomes se maintiennent entre 0 ($1,72 \pm 0,23 \mu\text{g/g}$) et 21 jours ($2,10 \pm 0,31 \mu\text{g/g}$ site donneur et $2,11 \pm 3,38 \mu\text{g/g}$ site receveur), puis diminuent de façon significative après 65 jours avec $1,08 \pm 0,14 \mu\text{g/g}$ au site donneur et $0,95 \pm 0,22 \mu\text{g/g}$ au site receveur. (Tableau S1 ; Figure 15B). Dans les nouvelles feuilles, les concentrations augmentent entre les jours 21 et 65, passant d'une moyenne de $0,27 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$ à $0,85 \pm 0,37 \mu\text{g/g}$ au site donneur, et de $0,27 \pm 0,05 \mu\text{g/g}$ à $0,90 \pm 0,18 \mu\text{g/g}$ au site receveur (Figure 15A). Ces résultats représentent des augmentations de 67,7 % et 70,6 % respectivement. Pour les vieilles feuilles, les concentrations sont similaires entre les deux périodes (0 et 21 jours) (Tableau S1 ; Figure 15C).

Les concentrations en cadmium dans les rhizomes montrent une diminution avec le temps (Figure 15B). Aucune différence significative n'a été observée entre les sites après 65 jours, ce qui n'est pas le cas à 21 jours (Tableau S2). A cette période, les concentrations au site donneur sont significativement plus élevées qu'au site receveur. Au début de l'expérience (0j), les concentrations étaient de $0,27 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$. Après 21 jours, elles étaient de $0,22 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$ pour le site donneur et de $0,16 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$ pour le site receveur. Après 65 jours, les concentrations ont diminué de plus de 50 %, atteignant $0,10 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$ pour le site donneur et $0,06 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$ pour le site transplanté. Concernant les nouvelles feuilles, les concentrations étaient plus élevées au jour 65 qu'au jour 21 pour les deux sites (Tableau S2 ; Figure 15A). Elles ont augmenté de respectivement 33 % et 23 %, en 44 jours, passant de $0,72 \pm 0,06$ à $1,08 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$ au site donneur et de $0,55 \pm 0,24$ à $0,71 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$ au site receveur (Tableau S2). Quant aux vieilles feuilles, aucune différence significative n'a été observée entre les deux sites après 21 jours. En revanche, les concentrations au site donneur après 21 jours sont significativement plus élevées que celles au temps zéro (Tableau S2 ; Figure 15C).

Finalement, pour le fer les concentrations dans les rhizomes ont montré une tendance à la hausse non significative entre le jour 0 ($2\,353 \pm 411 \mu\text{g/g}$) et le jour 21 ($5\,190 \pm 1\,031 \mu\text{g/g}$ pour le site donneur ; $4\,454 \pm 1\,220 \mu\text{g/g}$ pour le site transplanté), suivis d'une diminution significative au jour 65, atteignant une moyenne de $1\,019 \pm 138 \mu\text{g/g}$ au site donneur et de $1\,017 \pm 369 \mu\text{g/g}$ au site receveur (Tableau S3 ; Figure 15B). Les concentrations dans les nouvelles feuilles étaient significativement plus élevées au site receveur qu'au site donneur après 21 jours, mais elles étaient similaires au jour 65. Entre les périodes, les sites ont montré des augmentations. Au site donneur, les concentrations étaient de $123 \pm 20,8 \mu\text{g/g}$ au jour 21 et de $241 \pm 122 \mu\text{g/g}$ au jour 65. Au site transplanté, les niveaux étaient de $177 \pm 28,4 \mu\text{g/g}$ au jour 21 et de $273 \pm 68,8 \mu\text{g/g}$ au jour 65 (Figure 15A). Cela représente une augmentation d'environ 49 % pour le site donneur et d'environ 35 % pour le site transplanté en 44 jours (Tableau S3). Enfin, les feuilles anciennes n'ont montré aucune différence significative entre le jour 0 et le jour 21. Il n'y avait également aucune différence entre les deux sites après 21 jours (Tableau S3 ; Figure 15C).

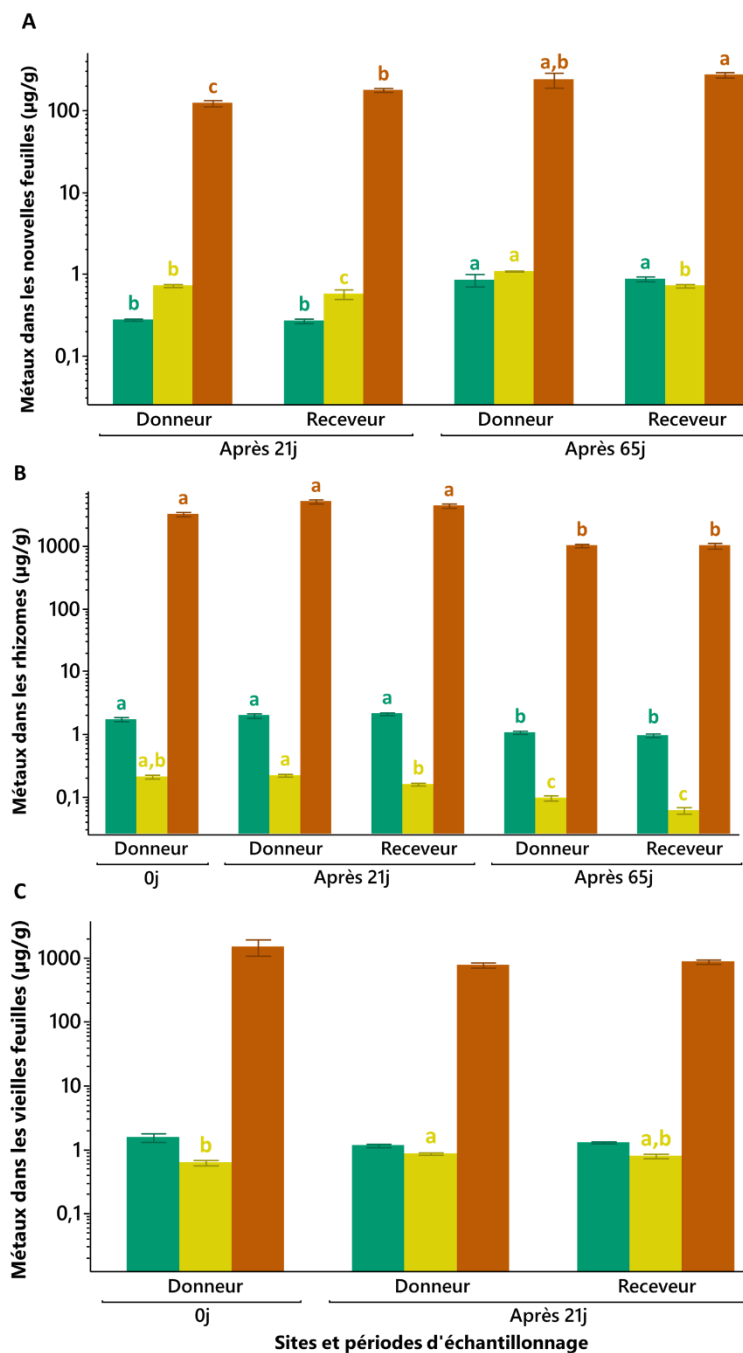


Figure 15: Concentration moyenne ($\pm$ SE) d'arsenic (vert), de cadmium (jaune) et de fer (orange) dans les nouvelles feuilles (A), les rhizomes (B) et les vieilles feuilles (C) des zostères transplantées ($\mu\text{g/g PS}$), en fonction du site (donneur et receveur) et des périodes d'échantillonnages (avant exposition [0j], après 21 jours [21j] et après 65 jours [65j]). Les lettres au-dessus des barres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$).

1.1.25 Pourcentage carbone, azote et ratio C/N

Les pourcentages de carbone dans les feuilles et les rhizomes ne montrent pas de différence significative entre les deux sites après 65 jours de transplantation (Tableau S5 ; Tableau 5). Concernant les feuilles, les pourcentages de carbone restent similaires entre les plants témoins prélevés au jour zéro et ceux échantillonnés à la fin de la transplantation (Tableau 5). En revanche, une augmentation significative a été observée dans les rhizomes, tant au site donneur qu'au site receveur. Les valeurs sont ainsi passées de $26,67 \pm 0,52$ % au jour zéro à $35,78 \pm 0,88$ % au site donneur et $34,42 \pm 0,66$ % au site receveur après 65 jours (Tableau S5 ; Tableau 5).

Pour l'azote, une différence significative est observée entre les sites donneur et receveur dans les feuilles (Tableau S6). Au site donneur, le pourcentage d'azote dans les feuilles est significativement plus faible après 65 jours ($1,61 \pm 0,08$ %) par rapport au site receveur ($2,29 \pm 0,20$ %). Le site receveur ne présente pas de différence significative par rapport au temps zéro ($2,21 \pm 0,33$ %), tandis que le site donneur montre une diminution significative (Tableau 5). En ce qui concerne les rhizomes, bien que les pourcentages d'azote ne diffèrent pas de manière significative entre les deux sites après 65 jours, une augmentation significative est observée aux deux sites (Tableau S6 ; Tableau 5). Les pourcentages d'azote augmentent respectivement de $0,91 \pm 0,16$ % au temps zéro à $1,16 \pm 0,52$ % au site donneur et $1,32 \pm 0,14$ % au site receveur.

Concernant le ratio C/N, les résultats obtenus dans les feuilles au site donneur ($24,03 \pm 1,17$ %) sont significativement plus élevés qu'au site receveur ($17,03 \pm 1,24$ %) et au temps zéro ($16,35 \pm 1,07$ %), ces derniers étant similaires entre eux. En ce qui concerne les rhizomes, les résultats sont similaires entre les deux sites et les deux périodes (Tableau S7 ; Tableau 5).

Tableau 5: Moyenne ($\pm$ SE) des pourcentages en carbone et en azote et du ratio C/N au début de la transplantation et après 65 jours au site donneur et receveur (% PS). Les différentes lettres situées au-dessus des moyennes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$) pour les feuilles. Les comparaisons sont faites séparément pour les feuilles et les rhizomes.

Tissus	Période d'échantillonnage (jours)	Site	Carbone (%)	Azote (%)	Ratio C/N
Feuilles	0	Témoins	35,93 $\pm$ 3,06	2,21 $\pm$ 0,33 ^a	16,35 $\pm$ 1,07 ^b
	65	Donneur	38,58 $\pm$ 0,19	1,61 $\pm$ 0,08 ^b	24,03 $\pm$ 1,17 ^a
		Receveur	38,80 $\pm$ 0,58	2,29 $\pm$ 0,20 ^a	17,03 $\pm$ 1,24 ^b
Rhizomes	0	Témoins	26,67 $\pm$ 0,52 ^b	0,91 $\pm$ 0,16 ^b	29,71 $\pm$ 4,78
	65	Donneur	35,78 $\pm$ 0,88 ^a	1,16 $\pm$ 0,52 ^a	22,08 $\pm$ 2,61
		Receveur	34,42 $\pm$ 0,66 ^a	1,32 $\pm$ 0,14 ^a	26,40 $\pm$ 2,86

1.1.26 Concentrations en chlorophylle *a* et *b*

Les concentrations en chlorophylle *a* et *b* ne présentent aucune différence significative entre les sites donneur et receveur (Tableau S8 ; Tableau S9 ; Tableau 6). Cependant, on note une diminution significative des concentrations entre le jour de la transplantation (jour 0) et celles mesurées respectivement après 21 et 65 jours. Le ratio de chlorophylle *a/b* ne présente aucune différence significative, que ce soit entre les sites ou entre les différentes périodes d'échantillonnage (Tableau S10 ; Tableau 6).

Tableau 6: Moyenne ($\pm$ SE) des concentrations en chlorophylle (Chl) *a* et *b* (mg/h PS) et du ratio *a/b* mesurés dans les feuilles des zostères transplantées dans la baie de Sept-Îles. Les différentes lettres situées au-dessus des moyennes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

Site	Période d'échantillonnage (jours)	Chl <i>a</i> (mg/g)	Chl <i>b</i> (mg/g)	Ratio <i>a/b</i>
Témoins	0	4,36 $\pm$ 0,51 ^a	1,34 $\pm$ 0,11 ^a	3,25 $\pm$ 0,11
	21	2,03 $\pm$ 0,13 ^b	0,59 $\pm$ 0,05 ^b	3,48 $\pm$ 0,07
Donneur	65	1,80 $\pm$ 0,29 ^b	0,53 $\pm$ 0,10 ^b	3,38 $\pm$ 0,09
	21	2,89 $\pm$ 0,15 ^b	0,88 $\pm$ 0,02 ^b	3,29 $\pm$ 0,14
Receveur	65	2,65 $\pm$ 0,61 ^b	0,80 $\pm$ 0,21 ^b	3,33 $\pm$ 0,20

DISCUSSION

Notre expérience de transplantation dans la baie de Sept-Îles a été réalisée pour compléter les données de laboratoire, obtenues en conditions contrôlées (CHAPITRE 1). Cette expérience a aussi été effectuée pour mieux appréhender les enjeux de la transplantation et de la phytoremédiation en conditions réelles. Notre principal objectif était d'évaluer les taux de survie sur un temps donné court des plants transplantés et leur potentiel de bioaccumulation ainsi que d'analyser s'il y avait des différences mesurées ou observées entre les deux sites grâce à nos paramètres de santé.

Les concentrations en métaux mesurées dans les sédiments au site donneur et receveur sont certes différentes, mais elles se situent dans le bas de notre intervalle de concentrations utilisé en laboratoire. Aux vues des résultats obtenus dans les premiers niveaux de contamination en laboratoire (CHAPITRE 1), il serait donc attendu de ne pas voir de différence significative entre les deux sites pour tous les paramètres mesurés.

Tout d'abord, à la fin de l'expérience de transplantation, nos observations nous ont permis de déterminer que les plants transplantés, que ce soit au site donneur ou au receveur, avaient bien survécu à l'expérience. Nous avons planté 50 plants par quadrat et nous avons retrouvé presque tous nos plants, qui semblaient tous visuellement en bonne santé, ce aux deux sites. Les rhizomes, qui mesuraient environ 4 cm lors de la transplantation, s'étaient développés et de nouvelles pousses étaient présentes sur plusieurs rhizomes après 21 et 65 jours. Ces observations ont été appuyées par les mesures de croissance des feuilles qui étaient, similaires entre les sites, et semblables à celles retrouvées dans plusieurs études menées en laboratoire ou sur le terrain (Zhang et al., 2015; Zhao et al., 2016; Wang et al., 2017). Ces premiers résultats et observations viennent supporter ce que d'autres études, de restauration d'environnement côtier ou de transplantation, avaient pu montrer : la zostère est une plante résiliente qui s'adapte à un changement d'environnement, à des manipulations et qui par la suite arrive à développer et étendre son herbier (Dabouineau et al., 2005; Li et al., 2010; Lee et al., 2019; Yadav et al., 2021).

Pour les deux sites étudiés, nous avons observé une augmentation des concentrations en métaux dans les nouvelles feuilles entre les deux périodes d'échantillonnage. En revanche, les concentrations dans les vieilles feuilles sont restées similaires entre les deux périodes mesurées (0 et 21 jours), à l'exception du cadmium, dont la concentration a varié au site donneur. Cette différence de bioaccumulation entre les nouvelles et les anciennes feuilles pourrait être expliquée par une accumulation plus lente, mais irréversible, des contaminants dans les tissus déjà formés. En revanche, les nouvelles feuilles, en cours de production, sont plus susceptibles d'accumuler des métaux en même temps qu'elles synthétisent leurs tissus. En effet, la zostère absorbe les contaminants parallèlement aux nutriments et autres molécules nécessaires à la production de sa biomasse (Brix & Lyngby, 1982).

Entre les deux sites, nous aurions pu nous attendre à voir quelques différences dans les concentrations des tissus, avec des niveaux plus élevés au site receveur. Cependant, seules les concentrations en fer dans les feuilles et en cadmium dans les nouvelles feuilles et les rhizomes ont présenté des différences significatives entre les sites, et ces concentrations étaient plus élevées au site donneur. Ces résultats, quoiqu'un peu inattendus, peuvent être

expliqués par la faible différence des concentrations aux deux sites. En effet, comme mentionné plus haut, les concentrations en métaux mesurées aux deux sites dans la baie de Sept-Îles, étaient plus élevées au site donneur, mais restaient dans le bas de notre intervalle étudié en laboratoire, qui n'a pas montré de différence significative à ces niveaux de contamination. Par ailleurs, notre expérience a duré deux mois, là où d'autres ont fait un suivi de leur transplantation pendant plus de cinq à six mois (Lee et al., 2019). Dans des conditions de contaminations plus marquées et différentes, d'autres études ont montré des différences significatives entre leur site témoin et leur site contaminé, montrant que la zostère est une espèce représentative de la contamination dans son milieu (Bat et al., 2016; Bonanno & Di Martino, 2016; Lee et al., 2019). En raison de ces différences dans nos paramètres, nos résultats ne montrent pas tout à fait les conclusions attendues en termes de bioaccumulation liée à la concentration dans le sédiment, mais démontrent parfaitement la capacité des herbiers de *Z. marina* à survivre à une transplantation et donc la possibilité de les utiliser pour développer la phytoremédiation en zone côtière.

Concernant les paramètres de santé mesurés, bien qu'il y ait parfois des différences dans les pourcentages de carbone et d'azote, que ce soit entre les sites ou entre les périodes de récolte, aucune tendance claire ne se dégage, ni en fonction du site ni en fonction de la période. La transplantation ne semble pas avoir eu d'effet systématique sur ces paramètres. En ce qui concerne les pigments, les concentrations de chlorophylle *a* et *b* mesurées à 21 et 65 jours étaient plus faibles que celles observées à zéro jour (témoin). Cependant, ces concentrations restent tout à fait dans la norme et similaires à d'autres études (Liu et al., 2011; Li et al., 2012; Fonte et al., 2023), et en parallèle, le ratio *a/b* est resté stable malgré cette diminution, ce qui suggère que la plante a ajusté ses concentrations de chlorophylle de manière à maintenir un équilibre entre les deux types de pigments, préservant ainsi ses fonctions photosynthétiques.

Grâce à cette étude menée sur le terrain et aux résultats obtenus, en lien avec notre expérience au laboratoire, le potentiel de transplantation et de phytoremédiation en zone intertidale de *Z. marina* est confirmé. Cette plante est capable de tolérer une transplantation et de se développer par la suite pour étendre son herbier tout en supportant la présence de

contaminants qu'elle accumule dans ses tissus. À l'échelle d'un herbier, comme la densité des plants est très importante (environ 1 706 plants/m² dans la baie de Sept-Îles par exemple), les concentrations en contaminants pourraient être significativement diminuées. La zostère marine représente un réel atout et un allié important pour diminuer les contaminations et les impacts négatifs des activités anthropiques en zone côtière, protégeant ainsi les écosystèmes et la biodiversité de ces environnements. Un atout de plus pour cette plante aquatique qui joue déjà un rôle écosystémique fondamental dans son milieu.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La contamination par les métaux en zones côtières est une problématique reconnue, nécessitant le développement et l'usage de nouvelles technologies écologiques innovantes pour décontaminer ces sites tout en préservant la biodiversité et les écosystèmes. L'objectif principal de notre projet était d'évaluer le potentiel de phytoremédiation de la zostère marine (*Zostera marina*), en particulier sa capacité maximale à bioaccumuler les métaux en région subarctique. En parallèle, nous avons cherché à déterminer si cette bioaccumulation affecte le contenu en carbone des plantes, étant donné que les herbiers marins sont connus pour participer au phénomène de « carbone bleu ».

Pour atteindre cet objectif, nous avons tout d'abord cherché à établir une concentration limite au-delà de laquelle les plantes ne pourraient plus concilier bioaccumulation, santé et survie. Cette limite permettra de déterminer si l'utilisation de la zostère dans un milieu contaminé ciblé est viable ou si la contamination est trop élevée pour que la phytoremédiation fonctionne de façon optimale. Après avoir exposé des plants de zostère à des sédiments contaminés en laboratoire, nous avons déterminé, pour l'arsenic, le cadmium et le fer, une concentration limite de ces éléments dans le sédiment à ne pas dépasser, afin d'optimiser la bioaccumulation tout en préservant la croissance des plants et leur capacité photosynthétique. Ces concentrations limites sont d'environ 5,3 mg/kg PS pour le cadmium, 41,24 mg/kg PS pour l'arsenic et 22 400 mg/kg PS pour le fer. À ces niveaux de contamination et dans les conditions expérimentales utilisées, un herbier de zostère de la taille de celui de la baie de Sept-Îles pourrait bioaccumuler environ 29,53 kg de cadmium, 501,1 kg d'arsenic et 72 975 kg de fer, ce qui en ferait sans aucun doute un atout majeur pour la décontamination des sédiments côtiers.

Notre deuxième sous-objectif était d'évaluer l'impact de la bioaccumulation de métaux sur la capacité des plantes à capter et séquestrer du carbone. Les plantes aquatiques,

comme la zostère, jouent un rôle clé dans la réduction du carbone atmosphérique grâce au processus de photosynthèse et à la production de biomasse. Cependant, les métaux, interférant avec les échanges d'ions peuvent se substituer à certains éléments ou perturber les interactions, ce qui altère le bon fonctionnement du métabolisme de la plante. En plus de nuire à sa santé, cela réduit la quantité de carbone que la plante peut absorber et stocker. Parmi les trois métaux étudiés, seul le fer a montré une diminution significative du pourcentage de carbone dans ses tissus lors de l'exposition en laboratoire. Les concentrations limites, établies à la fin de notre étude et mentionnées précédemment, ont pris en compte l'impact des métaux sur les pourcentages de carbone et le ratio C/N. Cela suggère que la phytoremédiation n'affecterait pas le potentiel de carbone bleu des herbiers de zostère pour les trois métaux, tant que les concentrations de contaminants ne dépassent pas les seuils précédemment mentionnés. En revanche, au-delà de ces limites, la captation et la séquestration du carbone pourraient être réduites, voire nulles. Toutefois, la transplantation et l'expansion de nouveaux herbiers dans des sites dont la contamination respecte les limites optimales de phytoremédiation contribueraient positivement au processus de carbone bleu. La phytoremédiation présente donc un double intérêt en tant que solution basée sur la nature.

Enfin, notre troisième et dernier sous-objectif consistait à réaliser une expérience de transplantation à notre site de référence, la baie de Sept-Îles, afin d'évaluer les enjeux et la faisabilité d'une telle démarche, mais aussi pour déterminer la résilience de la zostère marine lorsqu'elle est arrachée puis replantée dans un nouvel environnement. Cette expérience, d'une durée de deux mois, a montré que les plants possédaient une remarquable capacité à survivre et à s'adapter. Aucune mortalité significative n'a été observée, les paramètres de santé mesurés étaient comparables entre les sites, et les plants se sont bien développés, faisant pousser de nouvelles pousses à partir de leur rhizome et étendant ainsi leur réseau. Cette capacité d'adaptation constitue l'un des principaux atouts de la zostère marine, renforçant son potentiel en tant que plante phytoremédiatrice. Il serait également pertinent de répéter cette expérience en ciblant un site receveur présentant des concentrations en métaux plus élevées, proches de la limite établie par cette étude, et soumis à un stress chimique cumulatif.

Pour conclure, en intégrant l'ensemble des données recueillies, tant en laboratoire que sur le terrain, notre étude a permis d'évaluer de manière approfondie le potentiel de phytoremédiation des herbiers de zostère marine, en établissant des limites plus précises pour garantir une utilisation optimale de cette méthode innovante et écologique. Cette plante aquatique se révèle particulièrement prometteuse et présente un fort potentiel pour une phytoremédiation côtière. En outre, le développement de nouveaux herbiers permettrait non seulement de revégétaliser les zones côtières, mais aussi de créer de nouveaux habitats pour une grande variété d'organismes. Il offrirait également tous les autres services écosystémiques et fonctions écologiques liés aux herbiers de zostère, tels que la création de pouponnières pour certaines espèces de poissons, la stabilisation des sédiments, et la réduction des bactéries pathogènes (Beck et al., 2001; MPO, 2009; Lamb et al., 2017).

LIMITES DE L'ÉTUDE

Dans le but de compléter cette étude et d'offrir une vision plus globale à l'échelle de l'écosystème, plusieurs expériences complémentaires méritent d'être réalisées, permettant de répondre à des questions non abordées ici. Tout d'abord, il serait pertinent d'évaluer le potentiel de transfert trophique des contaminants accumulés dans la zostère vers les niveaux supérieurs du réseau alimentaire. Les herbiers étant des habitats pour de nombreux organismes et une source de nourriture pour plusieurs espèces, telles que certains oiseaux (Pigeot et al., 2006), les concentrations de métaux présentes dans leurs tissus pourraient être bioamplifiées à travers la chaîne alimentaire, transférant ainsi la contamination à des niveaux trophiques plus élevés, et potentiellement jusqu'à la consommation humaine. Une idée émergente de notre étude serait de répéter l'expérience d'exposition en laboratoire avec des microcosmes, en y incluant un maillon supérieur de la chaîne alimentaire, comme les littorines. Les systèmes d'éclairage utilisés pourraient être plus complexes en intégrant un programme d'éclairage progressif afin d'imiter le lever et le coucher du soleil. Cette expérience, réalisée sur une période plus longue, allant de la fin de l'hiver (fonte des glaces) jusqu'au début de l'hiver suivant, permettrait de mesurer la proportion de métaux transférée de la plante au gastéropode, et ainsi d'évaluer un premier indicateur de transfert trophique.

Par ailleurs, une seconde piste d'étude consisterait à analyser les formes et les liaisons des métaux dans les tissus des plantes pour évaluer leur biodisponibilité avant et après dégradation, dans le but de déterminer un taux potentiel de relargage en cas d'arrachement des parties aériennes et de dérive dans la colonne d'eau. Bien que certaines études aient déjà exploré le devenir des métaux lorsque les tissus coulent et sédimentent, peu se sont intéressées à leur devenir dans la colonne d'eau et à leur biodisponibilité dans le milieu (Lyngby & Brix, 1989; Hosokawa et al., 2016). Enfin, une limite de notre étude qui reste à explorer et à résoudre concerne l'impact du mélange des métaux dans les sédiments. En effet, dans notre expérience, nous avons choisi d'étudier les métaux individuellement afin d'établir les limites et les impacts spécifiques de chacun. Cependant, en milieu contaminé, les métaux se présentent sous forme de cocktail de contaminants, ce qui soulève des enjeux potentiels de synergie, d'additivité ou d'antagonisme, tant pour la bioaccumulation des métaux que pour les effets sur la santé de la plante. Le chemin vers une compréhension complète des enjeux liés à la phytoremédiation en milieu côtier nécessite encore des recherches et des ajustements, mais les résultats obtenus jusqu'à présent sont particulièrement prometteurs. Cette voie représente une opportunité majeure pour la décontamination des sédiments et pour l'avenir des environnements côtiers. L'engouement croissant autour de ce domaine de recherche ne doit pas faiblir, car il pourrait devenir un pilier essentiel de la gestion durable des écosystèmes côtiers de demain.

PERSPECTIVES

Une fois que les contaminants sont bioaccumulés dans les tissus de la plante, un traitement serait recommandé pour éviter la propagation de la contamination vers des niveaux trophiques supérieurs ou le retour dans l'écosystème à la suite de la dégradation des tissus. Une option envisageable consisterait à mettre en place une opération de récolte des tissus aériens, qui sont les plus exposés aux risques d'arrachement et de transport. Ces tissus pourraient ensuite être utilisés pour produire du biogaz ou pour d'autres applications industrielles, tout en veillant à l'extraction et au traitement des métaux. Cela permettrait de contribuer à la circularité des ressources et à une gestion durable des herbiers. Cette approche

permettrait de réduire les risques environnementaux tout en maximisant les avantages écologiques et économiques offerts par la phytoremédiation.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

Tableau S1: Résumé de l'ANOVA montrant les effets des facteurs de site de transplantation et de période d'échantillonnage sur la concentration en arsenic dans les tissus de la zostère. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source de variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	p
Nouvelles feuilles				
Période	1	2,444	178,360	<0,001
Site	1	0,001	0,004	0,948
Période*Site	1	0,008	0,582	0,452
Erreur	27	0,014		
Total corrigé	30			
Rhizome				
Période	2	4,225	49,014	<0,001
Site	1	0,001	0,009	0,926
Période*Site	2	0,071	0,829	0,445
Erreur	36	0,086		
Total corrigé	41			
Vieilles feuilles				
Période	1	0,326	5,852	
Site	1	0,021	0,386	0,542
Période*Site	1	0,021	0,386	0,542
Erreur	19	0,056		
Total corrigé	22			

Tableau S2: Résumé de l'ANOVA montrant les effets des facteurs de site de transplantation et de période d'échantillonnage sur la concentration en cadmium dans les tissus de la zostère. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source de variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	p
Nouvelles feuilles				
Période	1	0,499	45,300	<0,001
Site	1	0,525	47,545	<0,001
Période*Site	1	0,009	0,817	0,374
Erreur	26	0,011		
Total corrigé	29			
Rhizome				
Période	2	0,061	91,056	<0,001
Site	1	0,007	11,119	0,002
Période*Site	2	0,002	2,440	0,101
Erreur	36	0,001		
Total corrigé	41			
Vieilles feuilles				
Période	1	0,152	10,583	0,004
Site	1	0,015	1,023	0,325
Période*Site	1	0,015	1,023	0,325
Erreur	18	0,014		
Total corrigé	21			

Tableau S3 : Résumé de l'ANOVA montrant les effets des facteurs de site de transplantation et de période d'échantillonnage sur la concentration en fer dans les tissus de la zostère. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source of variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	p
Nouvelles feuilles				
Période	1	$7,19 \times 10^4$	22,674	<0,001
Site	1	$3,36 \times 10^4$	10,595	0,003
Période*Site	1	3 877	1,223	0,279
Erreur	27	3 170		
Total corrigé	30			
Rhizome				
Période	2	$5,01 \times 10^7$	134,189	<0,001
Site	1	$2,44 \times 10^5$	0,653	0,425
Période*Site	2	$1,76 \times 10^5$	0,471	0,628
Erreur	36	$3,73 \times 10^5$		
Total corrigé	41			
Vieilles feuilles				
Période	1	$7,65 \times 10^5$	9,877	0,005
Site	1	$1,42 \times 10^4$	0,184	0,673
Période*Site	1	$1,42 \times 10^4$	0,184	0,673
Erreur	19	$7,74 \times 10^4$		
Total corrigé	22			

Tableau S4: Résumé de l'ANOVA montrant les effets du facteur de site de transplantation sur la croissance relative de la zostère. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source of variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	p
Traitement	1	0,005	0,037	0,848
Erreur	43	0,137		
Total corrigé	44			

Tableau S5: Résumé de l'ANOVA montrant les effets des facteurs de site de transplantation et de période d'échantillonnage sur le pourcentage de carbone dans les tissus de la zostère. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source of variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	p
Feuilles				
Période	1	20,267	8,177	0,021
Site	1	0,033	0,014	0,910
Période*Site	1	0,033	0,014	0,910
Erreur	8	2,479		
Total corrigé	11			
Rhizome				
Période	1	117,041	317,189	<0,001
Site	1	0,235	0,637	0,461
Période*Site	1	0,235	0,637	0,461
Erreur	7	0,524		
Total corrigé	10			

Tableau S6: Résumé de l'ANOVA montrant les effets des facteurs de site de transplantation et de période d'échantillonnage sur le pourcentage d'azote dans les tissus de la zostère. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source of variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	p
Feuilles				
Période	1	0,179	4,048	0,079
Site	1	0,309	6,954	0,029
Période*Site	1	0,308	6,954	0,029
Erreur	8	0,044		
Total corrigé	11			
Rhizome				
Période	1	0,412	17,914	0,008
Site	1	0,012	0,459	0,528
Période*Site	1	0,012	0,459	0,528
Erreur	5	0,023		
Total corrigé	8			

Tableau S7: Résumé de l'ANOVA montrant les effets des facteurs de site de transplantation et de période d'échantillonnage sur le ratio C/N dans les tissus de la zostère. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source of variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	p
Feuilles				
Période	1	45,527	33,666	<0,001
Site	1	32,631	23,611	0,001
Période*Site	1	32,631	23,611	0,001
Erreur	8	1,382		
Total corrigé	11			
Rhizome				
Période	1	2,006	0,024	0,881
Site	1	14,779	0,178	0,686
Période*Site	1	14,779	0,178	0,686
Erreur	7	82,870		
Total corrigé	10			

Tableau S8: Résumé de l'ANOVA montrant les effets des facteurs de site de transplantation et de période d'échantillonnage sur la concentration en chlorophylle a dans les feuilles de la zostère. Les valeurs de p significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source of variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	p
Feuilles				
Période	2	6,584	46,113	<0,001
Site	1	1,444	10,114	0,007
Période*Site	2	0,289	2,023	0,169
Erreur	14	0,143		
Total corrigé	19			

Tableau S9: Résumé de l'ANOVA montrant les effets des facteurs de site de transplantation et de période d'échantillonnage sur la concentration en chlorophylle *b* dans les feuilles de la zostère. Les valeurs de *p* significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source of variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	<i>p</i>
Feuilles				
Période	2	0,665	49,662	<0,001
Site	1	0,155	11,573	0,004
Période*Site	2	0,031	2,349	0,132
Erreur	14	0,013		
Total corrigé	19			

Tableau S10: Résumé de l'ANOVA montrant les effets des facteurs de site de transplantation et de période d'échantillonnage sur le ratio chl *a/b* dans les feuilles de la zostère. Les valeurs de *p* significatives sont indiquées en gras.

Variable / Source of variation	Degré de liberté	Carré moyen	Rapport F	<i>p</i>
Feuilles				
Période	2	0,027	1,560	0,245
Site	1	0,029	1,662	0,218
Période*Site	2	0,017	0,952	0,409
Erreur	14	0,017		
Total corrigé	19			

Tableau S11: Résumé du test post hoc Tukey HSD sur l'effet de la transplantation sur la concentration en arsenic dans les rhizomes (A) et les nouvelles feuilles (B). Les différences significatives sont indiquées en gras.

A. Comparaisons rhizomes

Traitement	Traitement	p-value
Témoin 0j	Receveur 65j	0,0011
Témoin 0j	Donneur 65j	0,0305
Donneur 21j	Receveur 65j	<,0001
Donneur 21j	Donneur 65j	0,0001
Donneur 21j	Témoin 0j	0,9163
Receveur 21j	Receveur 65j	<,0001
Receveur 21j	Donneur 65j	<,0001
Receveur 21j	Témoin 0j	0,5424
Receveur 21j	Donneur 21j	0,9538
Donneur 65j	Receveur 65j	0,9277

B. Comparaisons nouvelles feuilles

Traitement	Traitement	p-value
Donneur 21j	Receveur 21j	0,9487
Donneur 65j	Receveur 21j	<,0001
Donneur 65j	Donneur 21j	<,0001
Receveur 65j	Receveur 21j	<,0001
Receveur 65j	Donneur 21j	<,0001
Receveur 65j	Donneur 65j	0,9471

Tableau S12: Résumé du test post hoc Tukey HSD sur l'effet de la transplantation sur la concentration en cadmium dans les nouvelles feuilles (A), les rhizomes (B) et les vieilles feuilles (C). Les différences significatives sont indiquées en gras.

A. Comparaisons nouvelles feuilles

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Donneur 21j	Receveur 21j	0,0035
Donneur 21j	Receveur 65j	0,9995
Donneur 65j	Receveur 21j	<,0001
Donneur 65j	Receveur 65j	<,0001
Donneur 65j	Donneur 21j	0,0004
Receveur 65j	Receveur 21j	0,0002

B. Comparaisons rhizomes

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Témoin 0j	Receveur 65j	<,0001
Témoin 0j	Donneur 65j	<,0001
Témoin 0j	Receveur 21j	0,0792
Donneur 21j	Receveur 65j	<,0001
Donneur 21j	Donneur 65j	<,0001
Donneur 21j	Receveur 21j	0,0020
Donneur 21j	Témoin 0j	0,9980
Receveur 21j	Receveur 65j	<,0001
Receveur 21j	Donneur 65j	0,0004
Donneur 65j	Receveur 65j	0,0540

C. Comparaisons vieilles feuilles

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Donneur 21j	Témoin 0j	0,0470
Receveur 21j	Témoin 0j	0,3604
Donneur 21j	Receveur 21j	0,2900

Tableau S13: Résumé du test post hoc Tukey HSD sur l'effet de la transplantation sur la concentration en fer dans les nouvelles feuilles (A) et les rhizomes (B). Les différences significatives sont indiquées en gras.

A. Comparaisons nouvelles feuilles

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Receveur 21j	Donneur 21j	0,0401
Donneur 65j	Donneur 21j	0,0073
Donneur 65j	Receveur 21j	0,6822
Receveur 65j	Donneur 21j	<,0001
Receveur 65j	Receveur 21j	0,0157
Receveur 65j	Donneur 65j	0,3534

B. Comparaisons rhizomes

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Témoin 0j	Receveur 65j	<,0001
Témoin 0j	Donneur 65j	<,0001
Donneur 21j	Receveur 65j	<,0001
Donneur 21j	Donneur 65j	<,0001
Donneur 21j	Témoin 0j	0,0942
Donneur 21j	Receveur 21j	0,6878
Receveur 21j	Receveur 65j	<,0001
Receveur 21j	Donneur 65j	<,0001
Receveur 21j	Témoin 0j	0,4460
Donneur 65j	Receveur 65j	0,9997

Tableau S14: Résumé du test post hoc Tukey HSD sur l'effet de la transplantation sur le pourcentage de carbone dans les rhizomes. Les différences significatives sont indiquées en gras.

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Donneur 65j	Témoin 0j	0,0004
Receveur 65j	Témoin 0j	0,0001
Donneur 65j	Receveur 65j	0,7203

Tableau S15: Résumé du test post hoc Tukey HSD sur l'effet de la transplantation sur le pourcentage d'azote dans les feuilles (A) et les rhizomes (B). Les différences significatives sont indiquées en gras.

A. Comparaisons feuilles

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Receveur 65j	Donneur 65j	0,0079
Témoin 0j	Donneur 65j	0,0444
Receveur 65j	Témoin 0j	0,9694

B. Comparaisons rhizomes

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Donneur 65j	Témoin 0j	0,1009
Receveur 65j	Témoin 0j	0,0934
Donneur 65j	Receveur 65j	0,8019

Tableau S16: Résumé du test post hoc Tukey HSD sur l'effet de la transplantation sur le ratio C/N dans les feuilles. Les différences significatives sont indiquées en gras.

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Donneur 65j	Témoin 0j	0,0003
Donneur 65j	Receveur 65j	0,0001
Receveur 65j	Témoin 0j	0,9066

Tableau S17: Résumé du test post hoc Tukey HSD sur l'effet de la transplantation sur la concentration en chlorophylle *a* dans les feuilles. Les différences significatives sont indiquées en gras.

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Donneur 0j	Donneur 65j	<,0001
Donneur 0j	Donneur 21j	<,0001
Donneur 0j	Receveur 65j	0,0015
Donneur 0j	Receveur 21j	0,0056
Donneur 21j	Donneur 65j	0,9468
Receveur 21j	Donneur 65j	0,0117
Receveur 21j	Donneur 21j	0,0578
Receveur 21j	Receveur 65j	0,9369
Receveur 65j	Donneur 65j	0,0618
Receveur 65j	Donneur 21j	0,2615

Tableau S18: Résumé du test post hoc Tukey HSD sur l'effet de la transplantation sur la concentration en chlorophylle *b* dans les feuilles. Les différences significatives sont indiquées en gras.

Traitement	Traitement	<i>p</i> -value
Donneur 0j	Donneur 65j	<,0001
Donneur 0j	Donneur 21j	<,0001
Donneur 0j	Receveur 65j	0,0011
Donneur 0j	Receveur 21j	0,0044
Donneur 21j	Donneur 65j	0,9880
Receveur 21j	Donneur 65j	0,0092
Receveur 21j	Donneur 21j	0,0287
Receveur 21j	Receveur 65j	0,9157
Receveur 65j	Donneur 65j	0,0559
Receveur 65j	Donneur 21j	0,1605

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afifudin, A. F. M., Irawanto, R., & Purwitasari, N. (2022). Selection of potential plants as phytoremediation for heavy metals in estuarine ecosystem: a systematic review. 4th International Conference on Life Sciences and Biotechnology (ICOLIB 2021),
- Apostolaki, E. T., Caviglia, L., Santinelli, V., Cundy, A. B., Tramati, C. D., Mazzola, A., & Vizzini, S. (2022). The importance of dead seagrass (*Posidonia oceanica*) matte as a biogeochemical sink. *Frontiers in Marine Science*, 9, 861998.
- Araùjo, C. A. S. (2023). *Propriétés bio-optiques et applications de télédétection pour la cartographie de la distribution des producteurs primaires dans les zones côtières de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent* Université du Québec à Rimouski].
- Arora, A., Sairam, R., & Srivastava, G. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current science*, 1227-1238.
- Barbier, E. B., Hacker, S. D., Kennedy, C., Koch, E. W., Stier, A. C., & Silliman, B. R. (2011). The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecological monographs*, 81(2), 169-193.
- Bat, L., Öztekin, H., Arici, E., & Visne, A. (2016). A preliminary study on the heavy metal levels of dwarf eelgrass *Zostera noltii* Homermann in the Black Sea. *J. Aquac. Mar. Biol*, 4, 00072.
- Beck, M. W., Heck, K. L., Able, K. W., Childers, D. L., Eggleston, D. B., Gillanders, B. M., Halpern, B., Hays, C. G., Hoshino, K., & Minello, T. J. (2001). The identification, conservation, and management of estuarine and marine nurseries for fish and invertebrates: a better understanding of the habitats that serve as nurseries for marine species and the factors that create site-specific variability in nursery quality will improve conservation and management of these areas. *Bioscience*, 51(8), 633-641.
- Bonanno, G., & Di Martino, V. (2016). Seagrass *Cymodocea nodosa* as a trace element biomonitor: bioaccumulation patterns and biomonitoring uses. *Journal of Geochemical Exploration*, 169, 43-49.
- Brix, H., & Lyngby, J. E. (1982). The distribution of cadmium, copper, lead, and zinc in eelgrass (*Zostera marina* L.). *Science of the Total Environment*, 24(1), 51-63.
- Brix, H., Lyngby, J. E., & Schierup, H.-H. (1983). Eelgrass (*Zostera marina* L.) as an indicator organism of trace metals in the Limfjord, Denmark. *Marine Environmental Research*, 8(3), 165-181.
- Carrière, J. (2018). Observatoire environnemental de la baie de Sept-Îles. *Institut nordique de recherche en environnement et en santé au travail (INREST), Sept-îles (Quebec, Canada)*.
- Dabouineau, L., LAMY, Y., & COLLAS, P. (2005). Phytoremediation et phytorestauration ou l'utilisation des plantes pour la dépollution et l'épuration des eaux usées. *Le rôle d'eau*, 124, 8-15.
- Dreujou, E., McKindsey, C. W., Grant, C., Tréau de Coeli, L., St-Louis, R., & Archambault, P. (2020). Biodiversity and habitat assessment of coastal benthic communities in a sub-Arctic industrial harbor area. *Water*, 12(9), 2424.

- Duarte, C. M., & Krause-Jensen, D. (2017). Export from seagrass meadows contributes to marine carbon sequestration. *Frontiers in Marine Science*, 4, 13.
- Duarte, C. M., Middelburg, J. J., & Caraco, N. (2005). Major role of marine vegetation on the oceanic carbon cycle. *Biogeosciences*, 2(1), 1-8.
- Duffy, J. E. (2006). Biodiversity and the functioning of seagrass ecosystems. *Marine Ecology Progress Series*, 311, 233-250.
- El-Sabh, M. I., & Murty, T. S. (1990). Mathematical modelling of tides in the St. Lawrence Estuary. *Oceanography of a large-scale estuarine system: The St. Lawrence*, 10-50.
- Environment, & Climate Change Canada. (2020). *Canadian Environmental Sustainability Indicators: Eelgrass in Canada*. Retrieved July 17, 2025 from <https://www.canada.ca/content/dam/eccc/documents/pdf/cesindicators/eelgrass-canada/2020/eelgrass-in-canada.pdf>
- Environnement Canada, Ministère du Développement durable, de l'Environnement, & de la Lutte contre les changements climatiques. (2007). Critères pour l'évaluation de la qualité des sédiments au Québec et cadres d'application: prévention, dragage et restauration. *Environnement Canada et Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatique*.
- Erfteimeijer, P. L., & Lewis III, R. R. R. (2006). Environmental impacts of dredging on seagrasses: a review. *Marine pollution bulletin*, 52(12), 1553-1572.
- Espel, D., Diepens, N. J., Boutron, O., Buffan-Dubau, E., Chérain, Y., Coulet, E., Grillas, P., Probst, A., Silvestre, J., & Elger, A. (2019). Dynamics of the seagrass *Zostera noltei* in a shallow Mediterranean lagoon exposed to chemical contamination and other stressors. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 222, 1-12.
- Fabris, G., Harris, J., & Smith, J. (1982). Uptake of cadmium by the seagrass *Heterozostera tasmanica* from Corio Bay and Western Port, Victoria. *Marine and Freshwater Research*, 33(5), 829-836.
- Faburé, J., Mougin, C., Rivet, D., & Siaussat, D. (2022). *Écotoxicologie*. Dunod. <https://books.google.ca/books?id=17huEAAAQBAJ>
- Faraday, W. E., & Churchill, A. C. (1979). Uptake of cadmium by the eelgrass *Zostera marina*. *Marine Biology*, 53, 293-298.
- Ferrario, F., Araujo, C. A., Belanger, S., Bourgault, D., Carriere, J., Carrier-Belleau, C., Dreujou, E., Johnson, L. E., Juniper, S. K., & Mabit, R. (2022). Holistic environmental monitoring in ports as an opportunity to advance sustainable development, marine science, and social inclusiveness. *Elem Sci Anth*, 10(1), 00061.
- Fonte, B., Oliveira, V., Sousa, A., Lopes, C., Henriques, B., Pereira, M., Figueira, E., Calado, R., Lillebø, A., & Coelho, J. (2023). *Zostera noltei* response to transplantation into historically Hg-contaminated sediments (A mesocosm experiment): Growth, bioaccumulation and photosynthetic performance. *Chemosphere*, 337, 139374.
- Fourqurean, J. W., Duarte, C. M., Kennedy, H., Marbà, N., Holmer, M., Mateo, M. A., Apostolaki, E. T., Kendrick, G. A., Krause-Jensen, D., & McGlathery, K. J. (2012). Seagrass ecosystems as a globally significant carbon stock. *Nature geoscience*, 5(7), 505-509.
- Fourqurean, J. W., Moore, T. O., Fry, B., & Hollibaugh, J. T. (1997). Spatial and temporal variation in C: N: P ratios, $\delta^{15}\text{N}$, and $\delta^{13}\text{C}$ of eelgrass *Zostera marina* as indicators

- of ecosystem processes, Tomales Bay, California, USA. *Marine Ecology Progress Series*, 157, 147-157.
- Gaeckle, J. L., & Short, F. T. (2002). A plastochrone method for measuring leaf growth in eelgrass, *Zostera marina* L. *Bulletin of Marine Science*, 71(3), 1237-1246.
- Gibson, R., Atkinson, R., & Gordon, J. (2007). Loss, status and trends for coastal marine habitats of Europe. *Oceanography and Marine Biology: an annual review*, 45, 345-405.
- Greiner, J. T., McGlathery, K. J., Gunnell, J., & McKee, B. A. (2013). Seagrass restoration enhances “blue carbon” sequestration in coastal waters. *PLoS One*, 8(8), e72469.
- Hoitink, A. F., & Jay, D. A. (2016). Tidal river dynamics: Implications for deltas. *Reviews of Geophysics*, 54(1), 240-272.
- Hosokawa, S., Konuma, S., & Nakamura, Y. (2016). Accumulation of Trace Metal Elements (Cu, Zn, Cd, and Pb) in Surface Sediment via Decomposed Seagrass Leaves: A Mesocosm Experiment Using *Zostera marina* L. *PLoS One*, 11(6), e0157983.
- Howarth, L., Lewis-McCrea, L., LaBelle, J., & Reid, G. (2021). Managing aquaculture and eelgrass interactions in Nova Scotia. *Centre for Marine Applied Research (CMAR), Dartmouth*.
- Israsena Na Ayudhya, T., Posey, F. T., Tyus, J. C., & Dingra, N. N. (2015). Using a microscale approach to rapidly separate and characterize three photosynthetic pigment species from fern. *Journal of Chemical Education*, 92(5), 920-923.
- Jeffery, N. W., Vercaemer, B., Stanley, R. R., Kess, T., Dufresne, F., Noisette, F., O'Connor, M. I., & Wong, M. C. (2024). Variation in genomic vulnerability to climate change across temperate populations of eelgrass (*Zostera marina*). *Evolutionary Applications*, 17(4), e13671.
- Jiang, R., Gao, X., Liu, J., Liu, Z., Qiu, G., Shao, L., He, W., Zhang, J., & He, P. (2024). Effect of temperature on photosynthetic physiology and the kinetics of nutrient absorption in *Zostera caespitosa*. *Environmental and Experimental Botany*, 219, 105617.
- Krishnamurthy, K., & MM, R. (1976). TRACE METAL EXTRACTION OF SOILS AND SEDIMENTS BY NITRIC ACID-HYDROGEN PEROXIDE.
- Lafratta, A., Serrano, O., Masque, P., Fernandes, M., Gaylard, S., & Lavery, P. (2023). Seagrass soils sequester up to half the metal emissions of one of the world's largest smelters. *Marine pollution bulletin*, 197, 115684.
- Lamb, J. B., Van De Water, J. A., Bourne, D. G., Altier, C., Hein, M. Y., Fiorenza, E. A., Abu, N., Jompa, J., & Harvell, C. D. (2017). Seagrass ecosystems reduce exposure to bacterial pathogens of humans, fishes, and invertebrates. *Science*, 355(6326), 731-733.
- Lee, G., Suonan, Z., Kim, S. H., Hwang, D.-W., & Lee, K.-S. (2019). Heavy metal accumulation and phytoremediation potential by transplants of the seagrass *Zostera marina* in the polluted bay systems. *Marine pollution bulletin*, 149, 110509.
- Lemieux, C., & Lalumière, R. (1995). *Répartition de la zostère marine (Zostera marina) dans l'estuaire du fleuve Saint-Laurent et dans la baie des Chaleurs (1994)*. Environnement Canada, Service canadien de la faune.

- Li, C., Wang, H., Liao, X., Xiao, R., Liu, K., Bai, J., Li, B., & He, Q. (2022). Heavy metal pollution in coastal wetlands: A systematic review of studies globally over the past three decades. *Journal of Hazardous Materials*, 424, 127312.
- Li, L., Huang, X., Borthakur, D., & Ni, H. (2012). Photosynthetic activity and antioxidative response of seagrass *Thalassia hemprichii* to trace metal stress. *Acta Oceanologica Sinica*, 31, 98-108.
- Li, N., Wang, J., & Song, W.-Y. (2016). Arsenic uptake and translocation in plants. *Plant and Cell Physiology*, 57(1), 4-13.
- Li, W.-T., Kim, J.-H., Park, J.-I., & Lee, K.-S. (2010). Assessing establishment success of *Zostera marina* transplants through measurements of shoot morphology and growth. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 88(3), 377-384.
- Li, Y., Chen, F., Zhou, R., Zheng, X., Pan, K., Qiu, G., Wu, Z., Chen, S., & Wang, D. (2023). A review of metal contamination in seagrasses with an emphasis on metal kinetics and detoxification. *Journal of Hazardous Materials*, 454, 131500.
- Lindenschmidt, K.-E., Baulch, H. M., & Cavaliere, E. (2018). River and lake ice processes—Impacts of freshwater ice on aquatic ecosystems in a changing globe. In (Vol. 10, pp. 1586): MDPI.
- Liu, J., Zhang, P., Guo, D., Niu, S., & Zhang, X. (2011). Annual change in photosynthetic pigment contents of *Zostera marina* L. in Swan Lake. *African Journal of Biotechnology*, 10(79), 18194-18199.
- Lyngby, J. E., & Brix, H. (1984). The uptake of heavy metals in eelgrass *Zostera marina* and their effect on growth. *Ecological Bulletins*, 81-89.
- Lyngby, J. E., & Brix, H. (1989). Heavy metals in eelgrass (*Zostera marina* L.) during growth and decomposition. *Hydrobiologia*, 176, 189-196.
- Macreadie, P., Baird, M., Trevathan-Tackett, S., Larkum, A., & Ralph, P. (2014). Quantifying and modelling the carbon sequestration capacity of seagrass meadows—a critical assessment. *Marine pollution bulletin*, 83(2), 430-439.
- Martel, M.-C., Provencher, L., Grant, C., Ellefsen, H.-F., & Pereira, S. (2009). *Distribution et description des herbiers de zostère du Québec*. Secrétariat canadien de consultation scientifique= Canadian Science Advisory
- Mehvar, S., Filatova, T., Dastgheib, A., De Ruyter van Steveninck, E., & Ranasinghe, R. (2018). Quantifying economic value of coastal ecosystem services: a review. *Journal of Marine Science and Engineering*, 6(1), 5.
- Montgomery, D. C. (2012). *Design and Analysis of Experiments*, 8th Edition. John Wiley & Sons, Incorporated. <https://books.google.ca/books?id=XQAcAAAAQBAJ>
- MPO. (2009). *La zostère (Zostera marina) remplit-elle les critères d'espèce d'importance écologique? Secr. can. de consult. sci. du MPO. Avis sci. 2009/018*.
- Murphy, G. E., Dunic, J. C., Adamczyk, E. M., Bittick, S. J., Côté, I. M., Cristiani, J., Geissinger, E. A., Gregory, R. S., Lotze, H. K., & O'Connor, M. I. (2021). From coast to coast to coast: ecology and management of seagrass ecosystems across Canada. *Facets*, 6(1), 139-179.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental chemistry letters*, 8, 199-216.

- Nellis, P., Dorion, D., Pereira, S., Ellefsen, H., & Lemay, M. (2012). Suivi de la végétation et des poissons dans six zosteraies au Québec (2005-2010). *Rapp. tech. can. sci. halieut. aquat.*, 2985.
- O'Donnell, J. A., Carey, M. P., Koch, J. C., Baughman, C., Hill, K., Zimmerman, C. E., Sullivan, P. F., Dial, R., Lyons, T., & Cooper, D. J. (2024). Metal mobilization from thawing permafrost to aquatic ecosystems is driving rusting of Arctic streams. *Communications Earth & Environment*, 5(1), 268.
- Pedersen, M. F., & Borum, J. (1992). Nitrogen dynamics of eelgrass *Zostera marina* during low nutrient availability. *Marine Ecology Progress Series*, 80, 65-73.
- Pelletier, E. (2023). *Précis d'écotoxicologie marine : pour la suite de nos océans*. Edition Lavoisier.
- Pigeot, J., Miramand, P., Guyot, T., Sauriau, P.-G., Fichet, D., Le Moine, O., & Huet, V. (2006). Cadmium pathways in an exploited intertidal ecosystem with chronic cadmium inputs (Marennes-Oléron, Atlantic coast, France). *Marine Ecology Progress Series*, 307, 101-114.
- Prowse, T. D. (2001). River-ice ecology. II: Biological aspects. *Journal of Cold Regions Engineering*, 15(1), 17-33.
- Qiao, Y., Zhang, Y., Xu, S., Yue, S., Zhang, X., Liu, M., Sun, L., Jia, X., & Zhou, Y. (2022). Multi-leveled insights into the response of the eelgrass *Zostera marina* L to Cu than Cd exposure. *Science of the Total Environment*, 845, 157057.
- Qin, L.-Z., Suonan, Z., Kim, S. H., & Lee, K.-S. (2021). Coastal sediment nutrient enrichment alters seagrass blue carbon sink capacity. *Environmental Science & Technology*, 55(22), 15466-15475.
- Quinn, G. P., & Keough, M. J. (2002). *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge university press.
- Robichaud, K. (2020). Bioremédiation de sols en milieu nordique: des ressources locales pour traiter une variété d'hydrocarbures pétroliers et autres contaminants avec la phytoremédiation, la mycoremédiation et l'aide de matières résiduelles fertilisantes.
- Röhr, M. E., Holmer, M., Baum, J. K., Björk, M., Boyer, K., Chin, D., Chalifour, L., Cimon, S., Cusson, M., & Dahl, M. (2018). Blue carbon storage capacity of temperate eelgrass (*Zostera marina*) meadows. *Global Biogeochemical Cycles*, 32(10), 1457-1475.
- Ruesink, J. (2018). Size and fitness responses of eelgrass (*Zostera marina* L.) following reciprocal transplant along an estuarine gradient. *Aquatic Botany*, 146, 31-38.
- Ruesink, J. L., Stachowicz, J. J., Reynolds, P. L., Boström, C., Cusson, M., Douglass, J., Eklöf, J., Engelen, A. H., Hori, M., & Hovel, K. (2018). Form–function relationships in a marine foundation species depend on scale: a shoot to global perspective from a distributed ecological experiment. *Oikos*, 127(3), 364-374.
- Salomons, W., Kerdijk, H., Van Pagee, H., Klomp, R., & Schreur, A. (1988). *Behaviour and impact assessment of heavy metals in estuarine and coastal zones*. Springer.
- Sankhla, M. S., Kumari, M., Nandan, M., Kumar, R., & Agrawal, P. (2016). Heavy metals contamination in water and their hazardous effect on human health-a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* (2016), 5(10), 759-766.

- Saucier, F. J., & Chassé, J. (2000). Tidal circulation and buoyancy effects in the St. Lawrence Estuary. *Atmosphere-Ocean*, 38(4), 505-556.
- Sharifuzzaman, S., Rahman, H., Ashekuzzaman, S., Islam, M. M., Chowdhury, S. R., & Hossain, M. S. (2016). Heavy metals accumulation in coastal sediments. *Environmental remediation technologies for metal-contaminated soils*, 21-42.
- Siikamäki, J., Sanchirico, J. N., Jardine, S., McLaughlin, D., & Morris, D. (2013). Blue carbon: coastal ecosystems, their carbon storage, and potential for reducing emissions. *Environment: Science and Policy for Sustainable Development*, 55(6), 14-29.
- Soetan, O., Nie, J., Viteritto, M., & Feng, H. (2023). Evaluation of sediment dredging in remediating toxic metal contamination—a systematic review. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(27), 69837-69856.
- Unsworth, R. K., Nordlund, L. M., & Cullen-Unsworth, L. C. (2019). Seagrass meadows support global fisheries production. *Conservation Letters*, 12(1), e12566.
- Vercaemer, B. (2022). *Distribution and condition of eelgrass (Zostera marina) in the historical goldmining region of Goldboro, Nova Scotia*. DFO: Fisheries and Oceans Canada.
- Vercaemer, B. M., Scarrow, M. A., Roethlisberger, B., Krumhansl, K. A., & Wong, M. C. (2021). Reproductive ecology of *Zostera marina* L.(eelgrass) across varying environmental conditions. *Aquatic Botany*, 175, 103444.
- Wang, X. T., Zhang, Q., Liu, Y. S., Zhang, P. D., & Li, W. T. (2017). The influence of increased iron concentration on survival and growth of seedlings and young plants of eelgrass *Zostera marina*. *Marine Ecology*, 38(3), e12425.
- Warren, C. (2008). Rapid measurement of chlorophylls with a microplate reader. *Journal of Plant Nutrition*, 31(7), 1321-1332.
- Xu, J.-G., Zhang, Q., Li, H.-C., Wu, X.-X., Li, W.-T., & Zhang, P.-D. (2019). Changes in survival, growth and photosynthetic pigment in response to iron increase in the leaf and root-rhizome tissues of eelgrass *Zostera marina*. *Aquatic Botany*, 154, 60-65.
- Xu, S., Kaldy, J. E., Zhang, X., Yue, S., Suonan, Z., & Zhou, Y. (2024). Comparison of metals in eelgrass (*Zostera marina* L.) and the environment across the North Pacific Ocean: Environmental processes drive source delivery. *Environmental Pollution*, 343, 123096.
- Yadav, A., Ram, A., Majithiya, D., Salvi, S., Sonavane, S., Kamble, A., Ghadigaonkar, S., Jaiswar, J. R. M., & Gajbhiye, S. (2015). Effect of heavy metals on the carbon and nitrogen ratio in *Avicennia marina* from polluted and unpolluted regions. *Marine pollution bulletin*, 101(1), 359-365.
- Yadav, M., Singh, G., & Jadeja, R. (2021). Phytoremediation for heavy metal removal: Technological advancements. *Pollutants and Water Management: Resources, Strategies and Scarcity*, 128-150.
- Zengin, F. K., & Munzuroglu, O. (2005). Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta biologica cracoviensia series Botanica*, 47(2), 157-164.

- Zhang, J., He, N., Liu, C., Xu, L., Chen, Z., Li, Y., Wang, R., Yu, G., Sun, W., & Xiao, C. (2020). Variation and evolution of C: N ratio among different organs enable plants to adapt to N-limited environments. *Global change biology*, 26(4), 2534-2543.
- Zhang, Q., Liu, J., Zhang, P.-D., Liu, Y.-S., & Xu, Q. (2015). Effect of silt and clay percentage in sediment on the survival and growth of eelgrass *Zostera marina*: transplantation experiment in Swan Lake on the eastern coast of Shandong Peninsula, China. *Aquatic Botany*, 122, 15-19.
- Zhao, J.-S., Zhang, Q., Liu, J., Zhang, P.-D., & Li, W.-T. (2016). Effects of copper enrichment on survival, growth and photosynthetic pigment of seedlings and young plants of the eelgrass *Zostera marina*. *Marine Biology Research*, 12(7), 695-705.
- Zheng, Z.-L. (2009). Carbon and nitrogen nutrient balance signaling in plants. *Plant signaling & behavior*, 4(7), 584-591.

