

Titre: Le paillis de Bois Raméal Fragmenté comme approche de
restauration écologique des roches stériles en contexte boréal :
Title: effets sur la succession spontanée et sur le reboisement par
plantation

Auteur: Simon Taurines
Author:

Date: 2024

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Taurines, S. (2024). Le paillis de Bois Raméal Fragmenté comme approche de
restauration écologique des roches stériles en contexte boréal : effets sur la
Citation: succession spontanée et sur le reboisement par plantation [Thèse de doctorat,
Polytechnique Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/59032/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/59032/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Marie Guittonny, & Armand Séguin
Advisors:

Programme: Génie minéral
Program:

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal,

et

l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue

**Le paillis de Bois Raméal Fragmenté comme approche de restauration
écologique des roches stériles en contexte boréal : effets sur la succession
spontanée et sur le reboisement par plantation**

SIMON TAURINES

Département des génies civil, géologique et des mines

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de *Philosophiæ Doctor*

Génie minéral

Août 2024

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal,

et

l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue

Cette thèse intitulée :

Le paillis de Bois Raméal Fragmenté comme approche de restauration écologique des roches stériles en contexte boréal : effets sur la succession spontanée et sur le reboisement par plantation

présentée par **Simon TAURINES**

en vue de l'obtention du diplôme de *Philosophiæ Doctor*

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

Tikou BELEM, président

Marie GUITTONNY, membre et directrice de recherche

Armand SÉGUIN, membre et codirecteur de recherche

Mélanie ROY, membre

Simon M LANDHÄUSSER, membre externe

DÉDICACE

*A tu bèla Occitània, aus mens, los de qui cau.*¹

¹ En occitan gascon : « À toi belle Occitanie, aux miens, à ceux qui sont ce qu'il faut qu'ils soient. », phrase inspirée d'une chanson de Joan de Nadau.

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie ma directrice de recherche, Marie Guittonny, qui a su m'inculquer une culture de la rigueur scientifique et m'a aidé à développer un esprit critique, si précieux. Merci Marie pour ta disponibilité, ta sollicitude, ton regard toujours consciencieux, constructif et juste sur le travail que je produisais. Au-delà des discussions directement reliées au projet, merci pour les échanges riches et passionnants au sujet de la recherche, de l'intégrité scientifique, de la liberté académique et de la rigueur scientifique. Enfin merci de m'avoir offert l'opportunité de travailler avec toi durant ces années universitaires. Cette aventure ne me laisse que d'excellents souvenirs, impérissables.

Je remercie également Armand Séguin, mon co-directeur de recherche. Armand, ton expérience, ton expertise, ton savoir, ta confiance et ta gentillesse m'ont permis de progresser à grande allure dans une discipline parfois difficile à appréhender. Merci de m'avoir offert l'opportunité de travailler au sein de ton laboratoire au Centre de Foresterie des Laurentides, avec une équipe merveilleuse et investie dans une recherche d'excellence.

Je remercie les partenaires de ce projet pour leur généreux soutien financier : Mitacs, Agnico Eagle Mines Ltée, Ressources Naturelles Canada, le Centre d'Étude de la Forêt et la fondation J.A. DeSève.

Je remercie toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce projet de recherche. Une seule page ne suffit pas à tous les mentionner. Je remercie notamment les collègues de l'URSTM, le personnel de l'IRME, le personnel du CFL, les stagiaires, le CERME, le comité ICM-UQAT, le comité SER-UQAT. Vous m'avez tous fait grandir.

Je remercie ma conjointe, Shanie-Victoria, qui m'a soutenu de toutes ses forces dans l'entièreté de cette aventure. Je ne serai arrivé à rien sans toi, ta générosité, ton courage et tes valeurs. Dans toutes les tempêtes, tu étais là. Merci pour nos moments privilégiés, nos discussions passionnées. Je t'aime.

Je remercie mes parents Valérie et Christian, ainsi que mon frère Lucas, pour leur bienveillance, leur amour et leur immense soutien.

Je remercie bien entendu tous mes amis et mes collègues étudiants : Bryce, Faneva, Nicolas, Mavric, Marc, William, Guillaume, Sabina, Samuel T., Xavier, Karoll-Ann, Samuel F., Samuel P.,

Karelle, Dave, Aurélie, Béranger, Anthony C., Anthony V., Bastien, Pauline, Ludivine et tous les autres. Vous êtes les couleurs d'une incroyable aquarelle.

Un grand merci à mes collègues de l'UQAT, au Vice-Rectorat à la Recherche et à la Création : Louis, Julien, Mathieu, Marie-Pier, Valérie, Anthony et Brigitte. Merci pour vos soutiens.

Enfin, un immense merci à l'UQAT, qui offre à ses étudiants un cadre hors norme pour réaliser des projets de recherche d'envergure, tout en conservant un caractère humain. Elle est un environnement d'étude unique et exceptionnel.

AVANT-PROPOS

La restauration écologique des sites miniers représente un défi majeur pour la science de l'environnement. Ce travail de recherche visait à explorer le développement des communautés végétales, les dynamiques de succession primaire et de succession microbienne (microsuccession) sur les roches stériles. En particulier, l'étude se concentrait sur le contexte abitibien, où les impacts environnementaux de l'exploitation minière posent des questions importantes quant aux stratégies de réhabilitation les plus efficaces.

L'objectif de cette thèse est de contribuer à la compréhension des mécanismes écologiques sous-jacents à la restauration des écosystèmes miniers, avec une attention particulière portée aux stratégies de reboisement, de recolonisation naturelle et de reforestation. Les résultats de cette recherche sont destinés à fournir des bases scientifiques solides pour les chercheurs, les praticiens de la restauration écologique, les décideurs politiques et les communautés locales engagées dans la remise en état de l'environnement naturel.

Cette thèse s'inscrit dans un cadre interdisciplinaire, intégrant des concepts d'écologie, d'écophysiologie, de pédologie, de microbiologie et d'hydrogéologie environnementale. Une partie importante de cette recherche porte également sur l'utilisation du bois raméal fragmenté (BRF) comme matériau prometteur pour l'amélioration des substrats dans le cadre de la restauration écologique. Les méthodes employées allient des approches traditionnelles de terrain et des techniques de laboratoire avancées, visant à offrir une vision holistique des processus de régénération écologique.

Ce travail est le fruit d'années de recherche et de collaboration avec de nombreux experts, institutions et partenaires locaux. Les connaissances acquises et les conclusions tirées de cette thèse visent à enrichir le domaine de la restauration écologique et à promouvoir des pratiques durables pour la réhabilitation des sites miniers, en particulier concernant les roches stériles.

DÉCLARATION RELATIVE À L'UTILISATION D'OUTILS D'INTELLIGENCE ARTIFICIELLE GÉNÉRATIVE

Conformément à l'article 4.a du Règlement 12 portant sur le plagiat ou la fraude pour les étudiantes et étudiants de l'UQAT, ainsi que conformément à l'article 5.17 de la Politique sur la conduite responsable en recherche et en recherche-crédation de l'UQAT, je, Simon Taurines, déclare par la présente que les outils d'intelligence artificielle (IA) générative utilisés dans le cadre de cette thèse n'ont en aucun cas compromis l'originalité du contenu de recherche produit. Ces outils ont été exclusivement employés pour des fins d'édition visant à améliorer la forme, sans jamais altérer le fond des textes rédigés. Ils n'ont par ailleurs jamais été utilisés dans la conception expérimentale du projet ni dans le développement méthodologique de la recherche. De plus, je n'ai jamais manqué d'attribuer la paternité des travaux, en citant de manière appropriée les sources et auteurs des idées et affirmations dont je ne suis pas à l'origine. Les outils d'IA utilisés sont :

- ChatGPT (modèle GPT 4o) d'OpenAI, utilisé pour l'aide à l'édition, à la synthèse et à la critique de mes textes ;
- DeepL de Deepl GmbH, utilisé pour l'aide à la traduction en anglais ;
- Consensus, utilisé très occasionnellement pour l'aide à la recherche documentaire.

RÉSUMÉ

L'industrie minière, bien que cruciale pour l'économie canadienne et québécoise, engendre des perturbations environnementales considérables, notamment à travers les rejets miniers comme les roches stériles. La réhabilitation des aires de stockage de ce type de rejet minier, exigée par la réglementation québécoise, présente une opportunité pour restaurer les services écologiques présents avant la perturbation du milieu. Cette thèse explore la restauration écologique des roches stériles en contexte boréal, en se concentrant sur l'utilisation du Bois Raméal Fragmenté (BRF) pour améliorer les conditions de ces substrats et faciliter la colonisation par les essences forestières et la plantation d'arbres.

Deux dispositifs expérimentaux in situ, conçus en blocs complets aléatoires permettant de tester plusieurs traitements d'apport de matière organique (paillis de BRF et terre végétale), combinés à des approches méthodologiques d'écologie, d'hydrogéologie, de métagénomique et de biostatistique ont permis de mener l'étude d'approches de végétalisation sur des dépôts de roches stériles du site minier Lapa, en Abitibi-Témiscamingue.

Les recherches menées ont montré que le paillis de BRF, en particulier celui de saule, améliore les propriétés microclimatiques des substrats de roches stériles, favorisant la colonisation des essences de mi-succession telles que *Picea glauca*. Cette essence, tolérante aux stress physico-chimiques, a non seulement vu une augmentation du nombre d'individus, mais aussi de leur biomasse. Cependant, l'effet du BRF n'a pas été universellement bénéfique. Par exemple, *Abies balsamea*, une espèce de mi- et fin de succession, a été négativement affectée par la compétition avec des espèces herbacées dominantes, comme *Tussilago farfara*, malgré l'amélioration de la rétention d'eau du substrat due au BRF.

En parallèle, l'ajout de terre végétale s'est avéré très efficace pour améliorer la croissance et la survie des conifères plantés, en particulier *Pinus banksiana*, une espèce de début de succession. Cet apport de matière organique a réduit la phytotoxicité des roches stériles, notamment en diminuant la mobilité de l'arsenic, et a augmenté la disponibilité des nutriments essentiels. Contrairement au BRF, la terre végétale a montré un impact significatif sur la croissance des arbres plantés, soulignant son potentiel pour des interventions de restauration plutôt actives et améliorative.

L'influence du BRF sur les communautés microbiennes a également été explorée. Le BRF a favorisé la diversité bactérienne et l'abondance de groupes fonctionnels utiles aux plantes, comme les bactéries fixatrices d'azote et certains champignons ectomycorhiziens. Ces communautés microbiennes se sont développées en fonction des propriétés physico-chimiques des substrats, avec une réponse plus déterministe observée chez les bactéries par rapport aux champignons, lors de l'apport de matière organique au substrat minéral.

Les travaux ont toutefois des limites, notamment en raison des différences entre les dispositifs expérimentaux et les caractéristiques des substrats étudiés. Des recherches futures à des échelles spatiales et temporelles plus larges, ainsi qu'une comparaison systématique de diverses méthodes d'amélioration des substrats, seront nécessaires pour mieux comprendre et généraliser les résultats obtenus.

Cette thèse démontre l'efficacité de la colonisation naturelle et de l'utilisation du BRF pour améliorer les conditions des roches stériles, favorisant ainsi la colonisation par certaines essences pionnière. L'ajout de terre végétale offre également des avantages significatifs pour la croissance des arbres plantés en améliorant la rétention d'eau et la disponibilité des nutriments tout en réduisant la phytotoxicité. Ces résultats fournissent des recommandations pratiques pour la restauration écologique des roches stériles et ouvrent des perspectives pour des recherches futures visant à optimiser ces interventions.

Mots-clés : succession primaire, technosols, amendement organique, réhabilitation environnementale, écologie de la restauration, phytotoxicité, microbiote

ABSTRACT

The mining industry, while crucial to the Canadian and Quebec economies, generates considerable environmental disturbance, particularly through mine waste such as waste rock. The rehabilitation of storage areas for this type of mine waste, required by Quebec regulations, presents an opportunity to restore the ecological services present prior to environmental disturbance. This thesis explores the ecological restoration of waste rock in a boreal context, focusing on the use of Ramial Chipped Wood (RCW) to improve the conditions of these substrates and facilitate colonization by forest species and tree planting.

Two in situ experimental setups, designed in randomized complete blocks to test several organic matter input treatments (RCW mulch and topsoil), combined with methodological approaches in ecology, hydrogeology, metagenomics and biostatistics allowed to study revegetation approaches on waste rock deposits at the Lapa mine site in Abitibi-Témiscamingue.

Research has shown that RCW mulch, particularly willow mulch, improves the microclimatic properties of barren rock substrates, encouraging the colonization of mid-successional species such as *Picea glauca*. This species, which is tolerant of physico-chemical stresses, not only saw an increase in the number of individuals but also in their biomass. However, the effect of RCW was not universally beneficial. For example, *Abies balsamea*, a mid- to late-successional species, was negatively affected by competition with dominant herbaceous species such as *Tussilago farfara*, despite the improved water retention of the substrate due to RCW.

At the same time, the addition of topsoil proved highly effective in improving the growth and survival of planted conifers, particularly *Pinus bankisana*, an early successional species. The addition of organic matter reduced the phytotoxicity of waste rock, notably by reducing the mobility of arsenic, and increased the availability of essential nutrients. Unlike RCW, topsoil showed a significant impact on the growth of planted trees, underlining its potential for rather active and meliorative restoration interventions.

The influence of RCW on microbial communities was also explored. RCW promoted bacterial diversity and the abundance of functional groups useful to plants, such as nitrogen-fixing bacteria and some ectomycorrhizal fungi. These microbial communities developed as a function of the

physico-chemical properties of the substrates, with a more deterministic response observed in bacteria than in fungi, when organic matter was added to the mineral substrate.

However, this work has its limitations, not least the differences between the experimental set-ups and the characteristics of the substrates studied. Future research on broader spatial and temporal scales, as well as a systematic comparison of various substrate enhancement methods, will be required to better understand and generalize the results obtained.

This thesis demonstrates the effectiveness of natural colonization and the use of RCW to improve waste rock conditions, thereby promoting colonization by certain pioneer species. The addition of topsoil also offers significant benefits for the growth of planted trees by improving water retention and nutrient availability while reducing phytotoxicity. These results provide practical recommendations for the ecological restoration of waste rock, and open up prospects for future research aimed at optimizing such interventions.

Keywords: primary succession, technosols, organic amendment, environmental rehabilitation, restoration ecology, phytotoxicity, microbiota

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	IV
AVANT-PROPOS	VI
DÉCLARATION RELATIVE À L'UTILISATION D'OUTILS D'INTELLIGENCE ARTIFICIELLE GÉNÉRATIVE.....	VII
RÉSUMÉ.....	VIII
ABSTRACT	X
LISTE DES TABLES	XVII
LISTE DES FIGURES.....	XX
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XXXI
LISTE DES ANNEXES.....	XXXIII
CHAPITRE 1 INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1.1 Contexte	1
1.2 Problématique et objectifs.....	3
1.3 Organisation de la thèse	4
1.4 Autres contributions de l'auteur.....	6
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE	8
2.1 Rationnel écologique, légal, disciplinaire de la thèse	8
2.1.1 Importance des services écologiques fournis par la forêt boréale.....	8
2.1.2 Exigences légales et financières concernant la restauration écologique des sites miniers au Québec.....	9
2.1.3 Du concept à la pratique : la restauration écologique	12
2.2 Production et types de rejets miniers.....	13

2.3	Cadre théorique	15
2.3.1	Concept de succession écologique	15
2.3.2	Règles d'assemblages et de réponses	19
2.3.3	Principes fondamentaux en écologie de la restauration	22
2.3.4	Facteurs du sol influençant l'établissement d'une communauté d'essences forestières boréale en succession primaire	26
2.4	Cadre appliqué.....	50
2.4.1	Approches de végétalisation des roches stériles	50
2.4.2	Bois Raméal Fragmenté (BRF)	57
2.4.3	Analyse bibliométrique	58
CHAPITRE 3 FACILITATING EARLY BOREAL FOREST SUCCESSION ON WASTE ROCK USING RAMIAL CHIPPED WOOD MULCH: A FIVE-YEAR STUDY		67
3.1	Abstract	67
3.2	Introduction	68
3.3	Materials and methods	71
3.3.1	Site characteristics and study area.....	71
3.3.2	Forest inventory.....	72
3.3.3	Experimental design and treatments	76
3.3.4	Monitoring, data collection, and measurements.....	79
3.3.5	Data analysis	86
3.4	Results	90
3.4.1	Effect of treatments on tree populations	90
3.4.2	Relationships between environmental variables and the number of woody individuals	93
3.5	Discussion	100

3.5.1	Spontaneous colonization of the experimental setup	100
3.5.2	Early pioneering role of <i>Picea glauca</i> and the effect of RCW mulch on its growth 101	
3.5.3	Effect of RCW mulch and environmental factors on <i>A. balsamea</i> colonization and growth 102	
3.6	Conclusion.....	103
3.7	Acknowledgements	103
CHAPITRE 4 ORGANIC MATTER ADDITIONS FOR IMPROVED REVEGETATION OF ARSENIC-RICH WASTE ROCK WITH PLANTED BOREAL CONIFERS: A THREE-YEAR IN SITU MONITORING STUDY		104
4.1	Abstract	104
4.2	Introduction	105
4.3	Materials and methods	107
4.3.1	Study area.....	107
4.3.2	Experimental setup.....	108
4.3.3	Conifer seedlings.....	111
4.3.4	Environmental variables.....	114
4.3.5	Statistical analysis	116
4.4	Results	117
4.4.1	Seedling responses	117
4.4.2	Environmental variables.....	121
4.4.3	Multivariate relationships.....	125
4.5	Discussion	128
4.5.1	Positive effect of topsoil layer on waste rock substrate and development of planted seedlings 128	

4.5.2	Arsenic in waste rock and accumulation in seedlings.....	130
4.5.3	Arsenic phytotoxicity	131
4.6	Conclusion.....	132
4.7	Acknowledgements	132
CHAPITRE 5 PROMOTING SOIL BACTERIAL COMMUNITY DEVELOPMENT IN EARLY PRIMARY SUCCESSION ON WASTE ROCK BY MULCHING WITH RAMIAL CHIPPED WOOD, IN A BOREAL CONTEXT		133
5.1	Abstract	133
5.2	Introduction	134
5.3	Materials and Methods	137
5.3.1	Study site and experimental design.....	137
5.3.2	Measurement of spontaneous colonization by herbaceous species.....	138
5.3.3	Soil element concentration analysis	139
5.3.4	Plant species selection.....	140
5.3.5	Sample collection	140
5.3.6	DNA isolation and quantification	142
5.3.7	Sequencing	142
5.3.8	Bioinformatic analysis.....	143
5.3.9	Statistical analysis	144
5.4	Results	147
5.4.1	Microbial alpha diversity	147
5.4.2	Microbial beta diversity	151
5.4.3	Functional diversity.....	154
5.5	Discussion	164
5.6	Conclusion.....	169

5.7	Acknowledgments	169
CHAPITRE 6 DISCUSSION GÉNÉRALE		170
6.1	Objectifs de recherche spécifiques	170
6.1.1	Efficacité du BRF dans la colonisation des roches stériles par les essences forestières boréales	170
6.1.2	Impact de l'apport de matière organique sur la croissance des essences forestières conifères	171
6.1.3	Influence du BRF dans l'établissement des communautés microbiennes et de leur interaction avec les essences forestières boréales	173
6.2	Limites des travaux de recherche	176
6.3	Implications pratiques	177
6.4	Futures recherches	178
CHAPITRE 7 CONCLUSION		180
RÉFÉRENCES		182
ANNEXES		215

LISTE DES TABLES

Table 2.1 Valeurs moyennes ou gamme de valeurs de masse volumique apparente selon le type de substrat (rejets miniers, sols forestiers, etc.), obtenues lors d'études réalisées principalement au Canada.	27
Table 2.2 Valeurs moyennes ou gamme de valeurs de la macroporosité mesurée sur résidus miniers (selon différents contextes) obtenues lors de travaux de recherche sur la végétalisation de résidus miniers.....	28
Table 2.3 Formes d'eau du sol.....	33
Table 2.4 Classes d'eau dans le sol.....	36
Table 2.5 Valeurs moyennes ou gamme de valeurs des éléments du sol disponible pour la nutrition minérale des plantes, obtenues lors d'études réalisées essentiellement au Canada.	43
Table 2.6 Valeurs moyennes ou gamme de valeurs de conductivité électrique mesurée selon différents types de substrat (rejets miniers, sols forestiers, etc.) obtenues lors d'études réalisées principalement au Canada.	48
Table 2.7 Revue non exhaustive des principaux facteurs et propriétés du substrat pouvant entraver la végétalisation des roches stériles.....	56
Table 3.1 Tree composition of the forest adjacent to the experimental setup. Mature trees were defined according to maturity criteria for each species based on the diameter at breast height and the height of the individuals (references to determine the theoretical mature DBH and height for each species are available in the Table F.1 of the supplementary material in ANNEXE F). The composition is presented through the average number of individuals, as well as through the relative abundance of the species. The standard errors are provided in parentheses.	74
Table 3.2 Grain size distribution of coarse and fine particles in waste rock (WR) and sand (S) materials, according to USDA textural classification (ISO 14688-1:2002). Mass percentage was obtained from the mass of sieve residue over the total mass of the sample.	78

Table 3.3 Suction (in kPa) and associated volumetric water content (in %) for the two materials.	85
Table 3.4 Chemical characteristics of the materials used in the experimental setup before ramial chip wood (RCW) mulching (N = 4, <2 mm fraction) and both organic and organo-mineral horizons of forest soils in reference areas (0–20 cm sampling depth, <2 mm fraction; N = 2), along with Quebec legal limit values concerning metal concentrations in soils (Quebec Government, 2016, Annexe 2, C criterium) (mg.kg ⁻¹ dry matter, ppm). These samples were collected in summer 2017. Standard errors are provided in parentheses.	88
Table 4.1 Granulometric distribution of the waste rock. D_x corresponds to the mesh size of the sieve at which $x\%$ of the particles pass. The uniformity and curvature coefficients are calculated as follows: $CU = D_{60}/D_{10}$ and $CC = (D_{30} - D_{10}) / (D_{60} - D_{10}) \times D_{60}$	110
Table 4.2 Average bulk density of each treatment type (n = 4). The standard error (S.E.) is indicated in parentheses.	111
Table 4.3 Mean survival indices calculated in 2021 among treatments for <i>Abies balsamea</i> . $\Delta Survival$: number of dead seedlings from year to year; $RSurvival$: interannual survival rate; WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The letters represent the results of the post-hoc test performed. Treatments that share the same letter do not differ significantly. The standard error is indicated in parentheses.	118
Table F.1 Age and size at which different species of North American forest trees are mature for seed production	239
Table G.1 Non-exhaustive literature review of arsenic concentrations in soils and conifer stems, needles and roots tissues	242
Table G.2 Average concentration (and standard error between brackets) of elements in substrates	246
Table G.3 Average element concentration and standard error between brackets in conifer needles	248
Table G.4 Results of statistical analyses and comparison tests on chemical concentrations in conifer needles	251

Table G.5 Results of statistical analyses and comparison tests on conifer survival	255
Table G.6 Results of statistical analyses and comparison tests on conifer growth.....	256
Table G.7 Results of statistical analyses and comparison tests on <i>P. banksiana</i> biomass.....	258
Table G.8 Chemical characterization of treatments (N = 4). RCWxWR: RCW mixed with waste rock, RCW/WR - RCW : RCW on top of waste rock in cells where RCW was mulched on top of waste rock, RCW/WR - WR: waste rock under RCW in cells where RCW was mulched on top of waste rock, WR: waste rock in cells where there was only waste rock, TS/WR - WR: waste rock under topsoil in cells where there was topsoil on top of waste rock, TS/WR - WR: black soil from cells where there was topsoil on top of waste rock. Criteria A, B and C, concerning Quebec legislation on elemental concentrations in soils. Values are means, values in brackets are standard errors.....	259
Table H.1 Fungal functional relative abundance according to treatments, tree species and compartment (mean $\pm$ S.E.).....	264
Table H.2 Bacterial functional relative abundance according to treatments, tree species and compartment (mean $\pm$ S.E.).....	265

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Composantes principales pour la définition d'un état restauré satisfaisant, modifié par Van Andel et Aronson, d'après Aronson, 2010 (Van Andel & Aronson, 2012).....	11
Figure 2.2 Relations entre écologie théorique, écologie de la restauration et restauration écologique (tirée de Palmer et al. 2016b)	13
Figure 2.3 Représentation simplifiée des étapes de mise en production et de gestion des déchets d'une mine à ciel ouvert. 1 : écosystème non perturbé, 2 : début de l'installation, retrait et stockage du mort-terrain, 3 : extraction de minerai, la partie économique s'en allant vers l'usine de traitement, le reste (les roches stériles) vers les haldes à stériles, 4 : Les boues et autres rejets de l'usine de traitement s'en vont vers les parcs à résidus.	15
Figure 2.4 Schématisation de la succession primaire de la forêt boréale mixte canadienne, comportant une sère herbacée (avec entre autres <i>Anaphalis</i> spp., <i>Trifolium</i> spp., <i>Pilosella</i> spp.), une sère arbustive (avec entre autres <i>Salix</i> spp.) et une sère forestière (début de sère avec entre autres <i>Betula</i> spp. et <i>Pinus</i> spp. jusqu'à la sère la plus vieille avec entre autres <i>Thuja occidentalis</i>)	16
Figure 2.5 Héritage biologique et échelles spatiales selon le contexte de succession primaire, adaptée de Van Andel, 2012. (A) Volcans ; (B) mines ; (C) moraines glaciaires ; (D) transports ; (E) dunes ; (F) affleurements rocheux ; (G) glissements de terrain ; (H) plaines inondables.	17
Figure 2.6 Représentation conceptuelle des processus spatio-temporels de la succession écologique. BD : <i>biological disturbances</i> (perturbations biologiques), AD : <i>abiotic disturbances</i> (perturbations abiotiques). Cette illustration se trouve dans l'article de Walker et Wardle de 2014.	19
Figure 2.7 Filtres sélectifs en fonction de l'échelle, représentation conceptuelle adaptée au contexte du projet de recherche de maîtrise de Simon Taurines, d'après les travaux de Keddy, 1992. <i>Regional filters</i> : filtres géographiques ; <i>Environmental filters</i> : filtres environnementaux ; <i>Biotic filters</i> : filtres d'interactions biotiques (Taurines, 2019).	20

- Figure 2.8 Représentation des deux principales approches de restauration à privilégier (*technical reclamation* : améliorative, active / *spontaneous succession* : adaptative, passive) le long d'un gradient stress-productivité végétale, en fonction de différents axes, objectifs et issues désirés pour la restauration d'un site perturbé. Illustration provenant de l'ouvrage de Prach et Hobbs en 2008, créée d'après les travaux de Prach et al. 2007..... 24
- Figure 2.9 Évolution de l'acquisition de l'eau en fonction du temps lors de la germination d'une graine. On peut voir les principales étapes des 3 phases de la germination d'une graine. Réalisée à partir des travaux de Derek Bewley (Bewley, 1997; Bewley & Black, 2012). ... 31
- Figure 2.10 Schéma montrant la notion d'eau capillaire et de pont capillaire (ou ménisque) entre des particules solides. 34
- Figure 2.11 Schéma montrant une particule solide fine et la notion d'eau liée..... 34
- Figure 2.12 Représentation schématique des différentes classes d'eau dans un sol : eau de gravité, eau capillaire et eau liée. Le schéma précise également les notions de : capacité au champ, eau inutilisable et réserve utile. Les numéros sur le schéma correspondent à 1. le point de saturation, 2. le point de ressuyage, 3. le point de flétrissement temporaire, 4. le point de flétrissement permanent et 5. la teneur en eau hygroscopique..... 37
- Figure 2.13 Réseau de co-occurrences de mots dans les résumés de 409 articles scientifiques portant sur l'amélioration de substrat dans la végétalisation des rejets miniers, dans la base de données Scopus. 59
- Figure 2.14 Augmentation du nombre de publications dans la discipline de l'amélioration de substrat pour la végétalisation des substrats miniers. En vert, l'augmentation normale standardisée du nombre de publication en Écologie et en rouge, tous domaines de recherche confondus dans le monde. 62
- Figure 2.15 Ratio standardisé d'accroissement annuel du nombre de publications dans la discipline de l'amélioration de substrat pour la végétalisation des substrats selon le nombre standardisé de publications dans le domaine de l'écologie (en vert) et dans tous les domaines de recherche confondus (en rouge)..... 63
- Figure 2.16 Cartes du nombre de publications dans la discipline par période et par pays, selon l'affiliation de l'auteur principal (auteur correspondant ou premier auteur) 64

- Figure 2.17 Cartes du nombre de publications cumulé dans la discipline par période et par pays, selon l’affiliation de l’auteur principal (auteur correspondant ou premier auteur) 65
- Figure 2.18 Carte du Canada des principales institutions académiques publiant des travaux dans la discipline. 66
- Figure 3.1 Spatial location of the study area. a. Location of the Lapa mine site in the province of Quebec in Canada (Landsat © / Copernicus program, 2020). b. Location and size of the study area on the mine site (CNES © / Airbus ©, 2020). 72
- Figure 3.2 Schematic representation of the experimental design. a. Study area and experimental design photographed by a drone (image from Agnico Eagle Mines Ltd, 2020). b. Design of the experimental setup: the light gray plots have a layer of 10 cm of sand over the scarified waste rock, the dark gray plots only have scarified waste rock, and the striped plots have a 2 cm layer of RCW over mineral substrates. 79
- Figure 3.3 Position of the EC5 and RT1 (followed by 5TM) probes in the substrates according to each treatment thickness. DL: datalogger; striped lines: RCW layer; light grey: sand layer; dark grey: waste rock. 82
- Figure 3.4 Waste rock water retention curve (in black) fitted using observed values with Van Genuchten's equation by applying the least squares method; sand water retention curve (in grey) estimated at from three geotechnical properties and the modified Kovaks equation. The dashed lines show the volumetric water content values at 10 kPa of suction and the dotted lines show the volumetric water content values at 100 kPa of suction for each material, following the same color convention as the water retention curves. 84
- Figure 3.5 A. Annual count of individuals per square meter (2018–2021) differentiated by treatment. The initial graph for each species represents the first year of its appearance. 'S' represents sand and 'WR' represents waste rock as mineral substrates. Dark and light gray bars denote results on mineral substrates alone and with RCW mulch, respectively. Error bars indicate standard errors. Significance is marked as follows: “N.S.” for $p > 0.08$, “.” for $0.05 < p < 0.08$, “*” for $0.01 < p < 0.05$, and “***” for $p < 0.01$. B. Trend in average count of individuals per square meter for each species, aggregated across all species, over the observation period. Circular markers and solid lines represent mineral substrates alone, while square markers and dashed lines represent mineral substrates with RCW mulch. Solid markers

and black lines denote sand as the mineral substrate, whereas hollow markers and gray lines represent waste rock as the mineral substrate. 91

Figure 3.6 Individual (right) biomass and total (left) biomass per plots in 2021 of the species *B. Papyrifera* (top) and *P. glauca* (bottom). 'S' represents sand and 'WR' represents waste rock as mineral substrates. Dark and light gray bars denote results on mineral substrates alone and with RCW mulch, respectively. Error bars indicate standard errors. Significance is marked as follows: "N.S." for $p > 0.08$, "*" for $0.01 < p < 0.05$, "***" for $0.005 < p < 0.01$, and "****" for $p < 0.005$ 93

Figure 3.7 A. Polynomial relationships between the number of *A. balsamea* individuals per square meter and the mean volumetric water content (θ) throughout the growing season. B. Polynomial relationships between the number of *A. balsamea* individuals per square meter and the number of days when the substrate's suction (Ψ) exceeded 100 kPa. Both figures: The yearly linear regressions are delineated by a solid line for 2020 and a dashed line for 2021. The overarching trend is depicted by a curve, which is derived from a second-degree polynomial equation. Symbols encased within circles represent data gathered exclusively from the mineral substrate, while those encased within squares signify RCW mulch on the mineral substrate. Filled symbols correspond to the sand as a mineral substrate, and empty symbols represent waste rock as a mineral substrate. 95

Figure 3.8 Quadratic relationship between the number of *P. glauca* individuals per square meters and the concentration of potassium [K^+] in the two mineral substrates, as observed in 2018. Filled symbols correspond to sand and hollow symbols refer to waste rock. 96

Figure 3.9 A. Linear relationships of the number of *A. balsamea* individuals/ m^2 as a function of weed cover. B. Linear relationships of the number of *A. balsamea* individuals/ m^2 as a function of *Pilosella ceaspitosa* cover. C. Least square fitted exponential decay curve by year of the number of *A. balsamea* individuals/ m^2 as a function of *Tussilago farfara* cover. Shared aspects across all figures: The relationship for each respective year is marked by a unique line style—a solid dark grey line for 2019, a dashed grey line for 2020, and a dotted light grey line for 2021. Symbols enclosed in circles represent the mineral substrate alone, while those enclosed in squares indicate the mineral substrate with RCW mulch. Filled symbols are used for sand as the mineral substrate, while hollow symbols represent waste rock as the mineral substrate.

- Shared elements in Figures A and B: The overall trend is represented by a curve, the equation of which is a second-degree polynomial. 99
- Figure 4.1 On the left, the site map shows the position of the experimental setup, its proximity to the forest adjacent to the site, and the elevation. On the right, a rectangle indicates the approximate position of the mine site in the province of Quebec..... 108
- Figure 4.2 Experimental setup with the four blocks (A1, A2, B1, and B2) containing the four treatments (RCW/WR, RCW×WR, TS, and WR). The position of the volumetric water content and temperature probes is represented by squares and the position of the dataloggers connected to probes is represented by triangles. The spacing between the blocks was 3 m and the spacing of the cells within the blocks was 1 m. The cells measured 5 m square. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. 109
- Figure 4.3 Position of the probes in the soil. The 5TM (Meter Environment ©) probes, which measured volumetric water content and temperature, were located 10 cm below the surface of the mineral substrate, while the ECH₂O-EC5 (Meter Environment ©) probes, which measured the volumetric water content only, were located 25 cm below the surface. DL: data logger; WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil 115
- Figure 4.4 Annual mean height (in cm) and basal diameter (in mm) of *A. balsamea* and *P. banksiana* planted seedlings among treatments. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The letters represent the results of the post-hoc test performed. Treatments that share the same letter do not differ significantly. The statistical comparison test is indicated under each barplot. Error bars represent standard error. 119
- Figure 4.5 Mean element concentrations in the needles of *A. balsamea* and *P. banksiana* seedlings in 2020, compared among treatments. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The barplots in A present the concentrations of essential elements (macronutrients), while the barplots in B present the concentrations of potentially phytotoxic elements. The name of the element is indicated above the barplot. The units are specified in parentheses, as well as the method detection limit

(MDL). The MDL is also represented by a dashed line. The statistical comparison test is indicated under each barplot. The letters are the results of the post-hoc test, in blue for *A. balsamea* and in red for *P. banksiana*. Treatments that share the same letter do not differ significantly. Error bars represent standard error. 120

Figure 4.6 Volumetric water content at a depth of 10 cm in the waste rock substrate for each treatment, measured during the growing season in 2019, 2020, and 2021. The periods correspond to those where all the measurements were of sufficient quality. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. 122

Figure 4.7 Average total element concentrations in the waste rock substrate of all treatments in 2020. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The units are specified in parentheses, as well as the method detection limit (MDL). The Quebec regulatory criteria (A, B, and C) are represented by the different type of lines (Quebec Environmental Quality Act Q-2, r.37). The statistical comparison test is indicated under each barplot. The letters are the results of the post-hoc test. Treatments that share the same letter do not differ significantly. Error bars represent standard error. 124

Figure 4.8 Responses of the two seedling species to the total arsenic concentrations of the waste rock substratum. A) Average height of *P. banksiana* seedlings as a linear function of the arsenic concentrations of the mineral substrate. B) Cumulative diameter of *A. balsamea* seedlings as a linear function of the arsenic concentrations of the mineral substrate. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. 126

Figure 4.9 Arsenic concentration in the needles of *P. banksiana* (A) and *A. balsamea* (B) seedlings in 2020 as a linear function of the total arsenic concentration in the waste rock substrate. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. 127

Figure 4.10 PCA biplot showing the relationships between chemical variables with the strongest relationships to each other (Pearson correlation $|R| > .5$). Correlations between the element concentrations of the needles of the two species were not considered to avoid biasing the interpretation of PCA. The ellipses represent the multivariate t-distributions of two groups

(TS cells and other treatment cells). The arrows represent the correlation between element concentrations in each group (*A. balsamea* needles, *P. banksiana* needles, and waste rock substrate). Finally, treatments are represented by different shapes: RCW/WR by circles, RCW×WR by triangles, TS by squares, and WR by crosses. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The cumulative proportion of variance explained by the graphical representation of the first two components is 74.6% (PC1: 64.4%, PC2: 10.2%)..... 128

Figure 5.1: The experimental setup with a randomized complete block design. The beige squares represent plots with a sand substrate, the grey squares indicate plots with a barren rock substrate, and the hatched bars indicate the presence of RCW mulch on the surface of the mineral substrate. 138

Figure 5.2: Comparative analysis of alpha bacterial diversity indexes between the soils and treatments. Panels A, B, C displays the number of ASVs observed; panels D and E illustrates the Shannon Entropy Index (H); and panels F and G showcases the Simpson's Index (D). Beige bars represent sand substrates, grey bars indicate waste rock, hatched bars signify the presence of RCW mulch, light green filled bars represent the rhizosphere, and light grey filled bars represent the bulk soil. Asterisks above the bars indicate the results of the ANOVA. “*” means $0.05 > p\text{-value} \leq 0.01$; “**” means $0.01 > p\text{-value} \leq 0.001$; “***” means $0.001 > p\text{-value}$ 148

Figure 5.3: Comparative analysis of alpha fungal diversity indexes between the soils and treatments. Panel A displays the number of ASVs observed between presence and absence of RCW mulch for both species; panel B displays the number of ASVs observed in the two compartments for *P. banksiana* ; panel C displays Shannon Entropy Index (H) between presence and absence of RCW mulch for both species; panel D displays the Shannon Entropy Index (H) in the two compartments for *P. banksiana* ; panel E displays the Simpson's Index (D) between presence and absence of RCW mulch in the bulk soil near the excavated *P. banksiana* seedlings; and panel F displays the Simpson's Index (D) between presence and absence of RCW mulch in the rhizosphere of *B. papyrifera*. Hatched bars signify the presence of RCW mulch, light green filled bars represent the rhizosphere, and light grey filled bars

represent the bulk soil. Asterisks above the bars indicate the results of the ANOVA. “***” means $0.01 > p\text{-value} \leq 0.001$; “****” means $0.001 > p\text{-value}$ 150

Figure 5.4: Non-metric Multidimensional Scaling analysis of bacterial communities based on Aitchison distance. The color of the ellipse and figure outlines indicates the substrate type: green for sand and red for waste rock. Continuous-line ellipses and 'wheat'-colored fill figure represent bacterial communities of soils (rhizosphere or bulk soil) without RCW mulch, while dashed-line ellipses with brown fill correspond to communities of soils with RCW mulch. Dark violet arrows depict environmental variables, whereas dark orange arrows represent the relative abundance of taxa ($R^2 > 0.4$). 152

Figure 5.5: Non-metric Multidimensional Scaling analysis of fungal communities based on Aitchison distance. The color of the ellipse and figure outlines indicates the substrate type: green for sand and red for waste rock. Continuous-line ellipses and “wheat”-colored fill figure represent fungal communities of soils (rhizosphere or bulk soil) without RCW mulch, while dashed-line ellipses with brown fill correspond to communities of soils with RCW mulch. Dark violet arrows depict environmental variables ($R^2 > 0.1$). 153

Figure 5.6: Comparative analysis of relative abundance of bacterial functional groups between the soils and treatments. Functional group plot: A – fermentation; B – aromatic compound degradation; C – anaerobic chemoheterotrophy; D – ureolysis. Beige bars represent sand substrates, grey bars indicate waste rock, hatched bars signify the presence of RCW mulch, light green filled bars represent the rhizosphere, and light grey filled bars represent the bulk soil. Letters above the bars indicate the results of post hoc tests for statistical significance. Groups sharing the same letter did not differ significantly at the 0.05 alpha significance level. 155

Figure 5.7: Comparative analysis of relative abundance of nitrogen fixing bacteria between the soils and treatments. Beige bars represent sand substrates, grey bars indicate waste rock, light green bars represent the rhizosphere, light grey bars represent the bulk soil, dark green bars indicate *P. banksiana*, “wheat” bars represent *B. papyrifera*, and hatched bars signify the presence of RCW mulch. Letters above the bars indicate the results of post hoc tests for statistical significance. Groups sharing the same letter did not differ significantly at the 0.05 alpha significance level. 156

Figure 5.8: Comparative analysis of the relative abundance of fungal functional groups between the soils and treatments. Functional group plot: A – arbuscular mycorrhizal; B – ectomycorrhizal; C – plant pathogen; D – wood saprotroph; E – endophyte. Beige bars represent sand substrates, grey bars indicate waste rock, light green bars represent the rhizosphere, light grey bars represent the bulk soil, dark green bars indicate *P. banksiana*, “wheat” bars represent *B. papyrifera*, and hatched bars signify the presence of RCW mulch. Letters above the bars indicate the results of post hoc tests for statistical significance. Groups sharing the same letter did not differ significantly at the 0.05 alpha significance level. 158

Figure 5.9: Linear relationship of the total organic carbon (TOC) concentration on bacterial abundance. From left to right and from top to bottom: 1) *Pirellula* spp. in bulk soil and rhizospheres of *B. papyrifera* and *P. banksiana*, 2) *Nocardioides* spp. in bulk soil near *P. banksiana*, and 3) *Pedomicrobium* spp. in waste rock bulk soil. Common markers are used across plots: RCW mulch presence is indicated by brown (presence) or wheat (absence) fill colors, tree species by red (*B. papyrifera*) or dark green (*P. banksiana*) outlines, and substrate type by circle (sand) or square (waste rock) shapes. Partial transparency in markers differentiates bulk soil in the first plot. Regression equations and adjusted R^2 values are displayed above each plot. 160

Figure 5.10: Linear relationship of other physicochemical soil properties on bacterial abundance in the rhizosphere of *B. papyrifera*, when soil was RCW mulched. From top to bottom: 1) effect of the pH on *Sphingomonas* spp. relative abundance and 2) effect of total carbon (mineral and organic) on Burkholderiaceae species. Common markers are used across plots: substrate type by circle (sand) or square (waste rock) shapes. Regression equations and adjusted R^2 values are displayed above each plot..... 161

Figure 5.11: Linear relationship of *Pilosella ceaspitosa* cover on bacterial abundance. From top to bottom: 1) effect of *P. ceaspitosa* cover on *Nocardioides* spp. relative abundance and 2) effect of *P. ceaspitosa* cover on *Duganella* spp. Common markers are used across plots: RCW mulch presence is indicated by brown (presence) or wheat (absence) fill colors, tree species by red (*B. papyrifera*) or dark green (*P. banksiana*) outlines, and substrate type by circle (sand) or square (waste rock) shapes. Partial transparency in markers differentiates bulk soil in the first plot. Regression equations and adjusted R^2 values are displayed above each plot. 162

Figure 5.12 : Linear relationship of <i>Talaromyces</i> spp. fungi abundance in the rhizosphere according to the <i>P. banksiana</i> seedling biomass. Common markers are used across plots: RCW mulch presence is indicated by brown (presence) or wheat (absence) fill colors, substrate type by circle (sand) or square (waste rock) shapes. Regression equations and adjusted R^2 values are displayed above each plot. To facilitate visualization of the data at a reasonable scale, one point in each plot (corresponding to a Tukey's fence outlier) is not shown.....	164
Figure 6.1 Illustration de l'influence des propriétés du milieu dans le développement des communautés microbiennes (bactéries et fongiques). La taille des flèches montre la contribution des propriétés du milieu dans le développement de ces communautés. En gris est représenté le substrat minéral, en brun est représenté l'effet du paillis et des végétaux.....	175
Figure 7.1 Image générée par intelligence artificielle avec Dall-E en fournissant dans le prompt le résumé de l'article présenté au CHAPITRE 3.	181
Figure C.1 Schéma conceptuel du complexe argilohumique	223
Figure C.2 Différences entre macro- et micro-agrégats.....	224
Figure D.1 Analyse comparative de l'agrégation des deux substrats minéraux, montrant la proportion de la masse de matériau non agrégé sur la masse totale de l'échantillon à gauche et sur la masse totale de la fraction $< 250 \mu\text{m}$ à droite. En gris clair est représenté le sable et en gris foncé sont représentés les roches stériles	235
Figure D.2 Analyse comparative de l'agrégation des roches stériles avec et sans paillis de BRF, montrant la proportion de la masse de matériau non agrégé sur la masse totale de l'échantillon à gauche et sur la masse totale de la fraction $< 250 \mu\text{m}$ à droite. En gris clair sont représentés les roches stériles seules et en gris foncé sont représentés les roches stériles avec un paillis de BRF. Seul le matériel minéral a été analysé, le paillis de BRF a été retiré lors de la collecte de l'échantillon sur le terrain	236
Figure F.1 Decision chart for the choice of statistical tests performed when comparing the effect of treatments on response variables.....	240
Figure G.1 Water retention curves for the mineral substrate (WR alone and RCWxWR), fitted to the observed values using the Brooks-Corey equation and the method of least squares	241
Figure G.2 Element concentration in the needles of the two species studied	244

Figure G.3 Element concentration in substrates. The different types of line are the criteria of provincial soil regulations	245
Figure H.1 Taxa bar chart of the bacterial community composition according to treatments, compartment and tree species	262
Figure H.2 Taxa bar chart of the fungal community composition according to treatments, compartment and tree species	263

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ANOVA	Analysis of Variance - Analyse de la Variance
ASV	Amplicon Sequence Variant
ATP	Adénosine Triphosphate
BAPE	Bureau d'Audience Publique Environnementale
BRF	Bois Raméal Fragmenté
DBH	Diameter Breast Height - Diamètre Hauteur Poitrine
DL	Datalogger
DMA	Drainage Minier Acide
DNA	Deoxyribonucleic Acid - Acide Désoxyribonucléique (ADN)
DW	Deionized Water - Eau désionisée
ETM	Éléments Traces Métalliques ou Métalloïdes
GIEC	Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Évolution du Climat
GLM	Generalized Linear Model - Modèle Linéaire Généralisé
GSD	Grain Size Distribution - Distribution granulométrique
ICP	Inductively Coupled Plasma
MDL	Method Detection Limit
MERN	Ministère de l'Énergie et des Ressources Naturelles
MFFP	Ministère de la Faune, des Forêts et des Parcs
NADP	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NMDS	Nonmetric Multidimensional Scaling
ONU	Organisation des Nations Unies
PBST	Phosphate Buffer Saline and Tween detergent

PCA	Principal Component Analysis - Analyse en Composante Principale
PCR	Polymerase Chain Reaction - Réaction de Polymérisation en Chaîne
PERMANOVA	Permutation Analysis of Variance
QIIME	Quantitative Insights Into Microbial Ecology
RCW	Ramial Chipped Wood - Bois Raméal Fragmenté (BRF)
RNA	Ribonucleic Acid - Acide Ribonucléique (ARN)
TOC	Total Organic Carbon - Carbone Organique Total
TS	Topsoil - Terre végétale
VIF	Variance Inflation Factor
VWC	Volumetric Water Content - Teneur en Eau Volumique
WR	Waste Rock - Roches stériles

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A Définitions et équations pour les propriétés du sol	215
ANNEXE B Méthode pour établir une courbe de rétention en eau expérimentale sur des matériaux grossiers.....	219
ANNEXE C Protocole stabilité des agrégats	222
ANNEXE D Analyse de l'agrégation des substrats minéraux des chapitres 3 et 5	233
ANNEXE E Stratégie de recherche et méthodologie pour l'analyse bibliométrique	237
ANNEXE F Matériel supplémentaire du chapitre 3	239
ANNEXE G Matériel supplémentaire du chapitre 4.....	241
ANNEXE H Matériel supplémentaire du chapitre 5.....	262

CHAPITRE 1 INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 Contexte

L'industrie minière joue un rôle crucial dans le développement économique du Canada et du Québec, tout en étant un acteur majeur dans la transformation des paysages et l'altération des écosystèmes forestiers boréaux. Bien que cette industrie soit une source significative de revenus et d'emplois, elle génère également d'importants volumes de rejets miniers, tels que les roches stériles et les résidus miniers, qui posent des défis considérables en matière de réhabilitation environnementale (Hudson-Edwards et al., 2011; Lottermoser, 2010; Macdonald et al., 2015). La réglementation provinciale au Québec, reconnaissant l'impact de ces activités, exige la réhabilitation des aires perturbées (Québec, 2024a, 2024b) afin de rétablir les services écologiques compromis.

Dans ce contexte, la restauration écologique des sites miniers représente non seulement une opportunité pour répondre à une obligation réglementaire, mais aussi une opportunité stratégique pour lutter contre les changements climatiques, notamment par la séquestration du carbone (Shrestha & Lal, 2006; Sperow, 2006). La reconstitution d'écosystèmes forestiers boréaux sur les haldes à stériles, en particulier, soulève des défis significatifs, mais cruciaux pour la récupération de la biodiversité et le retour des services écologiques (Best et al., 1983; Costanza et al., 2014; Maiti et al., 2021; Pohjanmies et al., 2017).

Les roches stériles ne peuvent malheureusement pas toujours servir de remblai à la fin des opérations minières, à cause du foisonnement lors de l'extraction du minerai (Hudson-Edwards et al., 2011; Lottermoser, 2010, 2011; Tongway & Ludwig, 2011b). Les aires de stockages des roches stériles, milieux caractérisés par l'absence de canopée et un substrat principalement composé de matière minérale à granulométrie variable, souvent très grossière, offrent des conditions extrêmes pour l'établissement des arbres (Amos et al., 2015; Bouchard et al., 2018; Kalonji, 2020; Madejón et al., 2021; Tongway & Ludwig, 2011b). Les principaux obstacles incluent une faible rétention d'eau, une disponibilité limitée en nutriments, la présence potentielle d'éléments phytotoxiques, l'absence d'héritage biologique tels que la banque de graines et les microorganismes, ainsi que des variations importantes de température (Dalling & Hubbell, 2002; Madejón et al., 2021;

Singh et al., 2002; Stefani et al., 2018; Young et al., 2022). Ces contraintes soulignent l'importance d'adopter des approches innovantes et adaptées pour la restauration écologique de ces environnements minéraux hautement perturbés (Bastin et al., 2019; Palmer et al., 2016b; Walker & del Moral, 2009a; Young et al., 2022).

Le sujet des rejets miniers dans la restauration écologique mérite une attention particulière, notamment en ce qui concerne l'amélioration du substrat avec de la matière organique pour créer des conditions propices à l'établissement et à la croissance des arbres. La littérature indique que l'ajout de matière organique, comme le Bois Raméal Fragmenté (BRF), peut modifier les propriétés physiques, chimiques et biologiques des substrats, favorisant ainsi l'établissement des espèces végétales et la reconstitution des communautés microbiennes essentielles à la récupération de l'écosystème (Breton et al., 2016; Germain & Eng, 2007; Lourdes Luna et al., 2018; Robert et al., 2014; Soumare et al., 2004; Stefani et al., 2023; Taurines, 2019; Vail & Koon, 1980).

Cette thèse explore divers aspects de la restauration² des roches stériles, à travers notamment l'évaluation d'un apport de matière organique pour faciliter la colonisation par des espèces ligneuses, l'étude des interactions entre les plantes et les communautés microbiennes en contexte de début de succession primaire, et l'exploration d'une approche de restauration écologique passive par colonisation spontanée visant à minimiser l'intervention humaine tout en initiant un retour vers un écosystème naturel et résilient.

En somme, cette thèse contribue à une meilleure compréhension des défis et des opportunités liés à la restauration écologique des roches stériles en contexte boréal. Par une approche multidisciplinaire, elle vise à établir des éclaircissements scientifiques solides pour guider les pratiques durant les premières étapes de la restauration dans le but ultime de rétablir des écosystèmes forestiers fonctionnels et diversifiés sur les terrains hautement perturbés par l'exploitation minière.

² Dans l'intégralité du présent manuscrit, par soucis d'allègement du texte, les termes « restauration » et « restauration écologique » désigne la même chose : la tentative de retour d'un écosystème à son état avant perturbation.

1.2 Problématique et objectifs

La restauration écologique des roches stériles confronte les praticiens à des défis écologiques majeurs, compte tenu de l'absence d'héritage biologique (Young et al., 2022). L'utilisation de matériaux organiques pouvant améliorer le substrat comme le BRF émerge comme une stratégie prometteuse visant à accélérer la succession écologique. Cette approche soulève la problématique de recherche suivante : dans quelle mesure l'apport d'un paillis de BRF aux substrats composés de roches stériles peut-il contribuer à initier et faciliter le développement d'écosystèmes forestiers boréaux diversifiés ?

Cette question englobe plusieurs objectifs de recherche spécifiques, notamment :

- Objectif spécifique 1 : Efficacité du BRF dans la colonisation des roches stériles par les essences forestières boréales :

Quel est l'impact précis du BRF sur les propriétés physico-chimiques et biologiques des substrats de roches stériles ? Comment l'ajout d'un paillis de BRF modifie-t-il les processus de colonisation végétale et de succession écologique dans un milieu hautement perturbé ? Le BRF favorise-t-il certaines espèces pionnières ou certaines communautés végétales plus que d'autres ?

- Objectif spécifique 2 : Impact de l'apport de matière organique sur la croissance des essences forestières conifères :

L'ajout de matière organique dans le substrat composé de roches stériles influence-t-il la croissance et le développement des essences forestières boréales ? De quelle manière les caractéristiques (microclimatiques, physico-chimiques, biologiques) du substrat sont-elles améliorées et comment affectent-elles la croissance spécifique d'une essence pionnière et d'une essence de succession plus tardive ?

- Objectif spécifique 3 : Influence du BRF dans l'établissement des communautés microbiennes du sol et de leur interaction avec les essences forestières boréales :

Quel est l'effet d'un paillis de BRF sur la diversité et la fonctionnalité des communautés microbiennes dans les substrats et la rhizosphère ? En particulier, le BRF contribue-t-il à l'établissement de symbioses bénéfiques entre les essences forestières naturellement colonisatrices et les microorganismes du sol ?

1.3 Organisation de la thèse

À partir de cette section, la thèse est articulée en 7 chapitres.

Le chapitre 2 présente une revue de la littérature contemporaine sur le sujet. Elle intègre 3 parties. La première partie porte sur le cadre rationnel de la thèse, sa raison d'être. Cette partie explore les motivations socio-environnementales, les exigences réglementaires et l'intérêt pour le développement de la discipline de la restauration écologique, qui justifient l'existence de cette thèse. La deuxième partie porte sur le cadre scientifique théorique, conceptuel et thématique de l'écologie de la restauration sur lequel s'appuie la troisième partie portant sur le cadre appliqué de la restauration écologique des roches stériles. Cette dernière partie offre une rétrospective des travaux de recherche sur les approches de végétalisation des roches stériles dans le monde, ainsi qu'une analyse bibliométrique présentant les acteurs de la recherche dans le domaine, dans le monde et plus spécifiquement au Canada. L'ensemble de ce chapitre permet :

- De démontrer que la recherche conduite dans le cadre de cette thèse s'inscrit de manière cohérente dans le corpus scientifique déjà existant ;
- D'identifier les lacunes et opportunités de recherche dans le domaine ;
- D'apporter un regard critique sur les recherches déjà conduites dans le domaine et de démontrer que les hypothèses de recherche formulées dans les chapitres suivants (articles scientifiques) sont pertinentes et fondées.

Les chapitres 3, 4 et 5 sont les articles scientifiques composant le corpus méthodologique et les résultats de recherche de cette thèse. Le tableau suivant récapitule les informations principales au sujet de ces chapitres (des liens hypertextes sont disponibles dans le statut des différents chapitres pour se rendre à l'article) :

Chapitre	Type	Statut	Revue	Maison d'édition	Métriques
Chapitre 3	Article scientifique	<u>Publié le 1^{er} juin 2024</u>	<i>Forest Ecology and Management</i>	Elsevier BV	Q1, CiteScore 2023 : 7,5
	Objectif spécifique de recherche :	OS1 sur l'effet du BRF dans la colonisation naturelle des roches stériles par les essences forestières boréales.			
Chapitre 4	Article scientifique	<u>Publié le 30 mai 2024</u>	<i>New Forests</i>	Springer Nature	Q1, CiteScore 2023 : 5,0
	Objectif spécifique de recherche :	OS2 sur l'impact de l'apport de matière organique sur la croissance des essences forestières conifères.			
Chapitre 5	Article scientifique	<u>Soumis le 7 mai 2024, en révision</u>	<i>Applied Soil Ecology</i>	Elsevier BV	Q1, CiteScore 2023 : 9,7
	Objectif spécifique de recherche :	OS3 sur l'influence du BRF dans l'établissement des communautés microbiennes et de leur interaction avec les essences forestières boréales			

Le chapitre 6 correspond à une discussion générale, mettant en perspective les résultats présentés dans les chapitres 3, 4 et 5.

Le chapitre 7 est la conclusion générale de cette thèse, tentant de synthétiser et de généraliser certains résultats et d'offrir quelques recommandations pour les praticiens concernant la restauration écologique des roches stériles.

Les sections subséquentes sont les références présentes dans l'ensemble du document et les annexes, dont les matériels supplémentaires des chapitres 3, 4 et 5.

Pour optimiser la clarté et la concision du document, il a été décidé de ne pas inclure de section dédiée à une méthodologie générale dans cette thèse. En effet, le document est structuré sous forme d'articles, et les chapitres 3, 4 et 5 contiennent déjà une description détaillée de la méthodologie spécifique employée pour chacun d'eux. Cette approche permet d'assurer que chaque chapitre reste autonome et compréhensible en lui-même, tout en maintenant une présentation fluide et cohérente de l'ensemble des travaux. Néanmoins,

le chapitre 2 portant sur la revue de littérature présente quelques éclaircissements sur les choix méthodologiques et sur les designs expérimentaux choisis dans le cadre de la thèse. Certains protocoles présentés en annexe viennent compléter ou s'ajouter à la méthodologie présentée dans les articles.

1.4 Autres contributions de l'auteur

L'auteur de la thèse a été l'auteur principal de toutes les productions scientifiques dans le cadre de cette thèse. Il a été impliqué dans toutes les phases du projet, de la conception expérimentale à la publication des résultats.

Au-delà des productions sous la forme d'articles scientifiques décrites précédemment, l'auteur a eu l'opportunité de présenter ses travaux de recherches de doctorat (et de maîtrise) à plusieurs reprises. L'ensemble des travaux et financements de l'auteur peuvent se trouver sur son ORCID.

Voici un détail des présentations effectuées dans le cadre de conférences, colloques, congrès et séminaires :

- Séminaires Enviromines du CERME, 2023 - Rouyn-Noranda, Canada

Apports de matière organique pour favoriser la croissance de plantules de conifères sur stériles miniers

- Webinaires 2RLQ, 2023 - En ligne

Utilisation de paillis de Bois Raméal Fragmenté pour faciliter la succession spontanée des plantes sur stériles miniers

- 89ème Congrès de l'ACFAS, 2022 - Québec, Canada

Variabilité des communautés bactériennes et fongiques de l'épinette blanche et du sapin baumier lors de leur colonisation sur roches stériles minières, en contexte boréal

- Conférence mondiale de la SER, 2021 - Québec, Canada

Mulching with Rameal Chipped Wood to facilitate plant spontaneous colonisation on mine waste rocks, in a boreal forest context

- REVER 10, 2019 - Paris, France

Utilisation de paillis de Bois Raméal Fragmenté pour faciliter le boisement naturel des stériles miniers, sous climat boréal

- Conférence européenne de la SER, 2018 - Reykjavik, Islande

Use of Ramial Chipped Wood (RCW) for natural afforestation of mine sites, under boreal climate

- Colloque annuel de l'IRME, 2018 - Montréal, Canada

Utilisation de bois raméal fragmenté pour faciliter la recolonisation forestière sur roches stériles d'une mine d'or

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Rationnel écologique, légal, disciplinaire de la thèse

2.1.1 Importance des services écologiques fournis par la forêt boréale

La forêt boréale est un écosystème essentiel produisant de nombreux services écologiques (Gauthier et al., 2015; Keenan et al., 2015; Pohjanmies et al., 2017). L'importance de ces services a été soulignée dans l'évaluation des écosystèmes pour le Millénaire de l'ONU en 2005, qui les a classés en services d'approvisionnement, de régulation, socioculturels et de soutien (ONU, 2005).

La forêt boréale joue un rôle crucial dans la régulation du climat global, notamment par la séquestration de dioxyde de carbone, une fonction influencée par la productivité primaire nette des plantes. Cette dernière, bien que généralement réduite par le stress environnemental, maintient une forte corrélation avec l'allocation de carbone dans les forêts boréales (Aber & Federer, 1992; Gower et al., 2001; Melillo et al., 1993; Odum & Barrett, 1971; Pan et al., 2011). En outre, la formation de litière dans ces forêts participe au stockage du carbone au niveau du sol et contribue de manière significative à la productivité primaire nette de ces forêts, en particulier dans les peuplements plus âgés (Chen et al., 2017).

Des études récentes indiquent une augmentation potentielle de la productivité primaire nette des forêts boréales finlandaises en raison de l'élévation des niveaux de CO₂ atmosphérique (Kalliokoski et al., 2018). Cependant, les forêts nord-américaines, y compris la forêt boréale, présentent une productivité primaire nette plus élevée en début de succession, avec un pic entre les stades de début et de mi-succession, ce qui indique que les jeunes forêts sont de plus grands puits de carbone que les forêts plus âgées (Gough et al., 2016).

En 2019, Bastin et al. ont mis en évidence le potentiel significatif de la restauration des forêts boréales dans la compensation des changements climatiques, soulignant leur rôle crucial pour atteindre les objectifs du GIEC (Bastin et al., 2019). Cette restauration représente ainsi une stratégie essentielle pour la lutte contre les changements climatiques globaux.

Évaluer le capital naturel d'une forêt et la valeur de ses fonctions écologiques est complexe et controversé. Comprendre les liens entre les bénéfices économiques et les fonctions écologiques à diverses échelles est crucial pour la prise de décisions politiques intégrant gains économiques et minimisation des pertes écologiques (Chen et al., 2016). Bien que la recherche combinant écologie et économie soit encore naissante, certaines évaluations financières des services écologiques ont déjà abouti à des stratégies de gestion écologique. Par exemple, en Finlande, le tourisme basé sur la nature a soutenu la restauration de la forêt boréale, compensant les pertes écologiques de l'industrie du bois par des profits touristiques (Ahtikoski et al., 2011). Les coûts liés à l'utilisation et à la destruction des écosystèmes peuvent être évalués selon divers critères financiers, incluant les coûts de remplacement ou de restauration et les investissements pour sensibiliser les consommateurs (Chen et al., 2016; Costanza et al., 1997; Costanza et al., 2014). Cette approche souligne l'importance de la recherche fondamentale en restauration écologique pour répondre aux besoins de l'humanité et résoudre des problématiques environnementales majeures.

2.1.2 Exigences légales et financières concernant la restauration écologique des sites miniers au Québec

Au Canada, la gestion des travaux miniers relève principalement de la compétence provinciale, comme en témoigne la Loi sur les mines du Québec. Cette loi établit un cadre légal pour l'exploitation des ressources minérales, considérées comme un bien collectif. Elle souligne l'importance d'une extraction optimale pour maximiser la richesse de la population québécoise, tout en assurant un développement respectueux de l'environnement et inclusif des communautés locales (Art. 2 de la Loi sur les mines) (Québec, 2024b).

La loi prévoit des mesures obligatoires de protection, de réaménagement et de restauration des sites miniers après leur exploitation (Art. 232.1) (Québec, 2024b). Ces mesures comprennent la soumission d'un plan de réaménagement et de restauration à l'approbation du Ministre (Arts. 232.3, 232.4) (Québec, 2024b). Le plan doit inclure une évaluation détaillée des coûts anticipés des travaux de réaménagement et de restauration (Art. 232.3) (Québec, 2024b). Avant de débiter l'exploitation, une garantie financière correspondant à ces coûts anticipés doit être fournie, constituant un défi financier pour les compagnies minières (Art. 232.4) (Québec, 2024b). Ces dernières sont ainsi incitées à chercher des

solutions environnementales efficaces et économiques, tout en garantissant la sûreté environnementale et la santé publique post-exploitation.

La législation québécoise relative aux travaux miniers, notamment la Loi sur les mines, aborde de manière ambiguë la notion de risque environnemental. Pour une compréhension plus approfondie, il est nécessaire de se référer à la Loi sur la qualité de l'environnement, qui prévoit dans son article 232.12 que les dispositions de la Loi sur les mines n'affectent ni ne restreignent l'application de la Loi sur la qualité de l'environnement (Québec, 2024a, 2024b).

Cette dernière loi souligne l'importance collective et d'intérêt public de l'environnement, englobant des dimensions écologiques, sociales et économiques (Québec, 2024a). Elle vise la protection, l'amélioration, la restauration, la valorisation et la gestion de l'environnement comme objectifs d'intérêt général (Québec, 2024a). Le droit à un environnement de qualité et la sauvegarde des espèces vivantes sont affirmés (Art. 19.1), plaçant les individus et les communautés au centre des préoccupations environnementales liées aux projets miniers (Québec, 2024a).

Le processus d'évaluation et d'approbation des plans de réaménagement et de restauration à l'étape des projets miniers implique des consultations publiques, notamment par le biais du Bureau d'Audience Publique sur l'Environnement (BAPE) (Québec, 2024a). Le BAPE évalue les impacts environnementaux des projets miniers et organise des audiences publiques pour permettre aux citoyens de s'exprimer sur ces impacts.

La Loi sur la qualité de l'environnement prévoit également que le Ministre peut imposer des conditions spécifiques pour protéger la qualité de l'environnement et prévenir les dommages à la vie, à la santé, à la sécurité et au bien-être des êtres humains et des écosystèmes (Art. 25) (Québec, 2024a). Ces conditions peuvent inclure des mesures d'atténuation des impacts environnementaux, des programmes de suivi environnemental, la gestion des matières résiduelles, et des mesures adaptées aux changements climatiques.

Pour guider les entreprises dans l'élaboration de leurs plans, le Guide de préparation du plan de réaménagement et de restauration des sites miniers au Québec définit la notion d'un « état satisfaisant » du site après exploitation, en insistant sur le contrôle de la contamination potentiellement associée aux aires d'entreposage des rejets pour assurer la

qualité des eaux, sur le respect de seuils maximum de contaminants dans les sols avant végétalisation et sur la nécessité que les végétaux soient robustes, viables à long terme et autonomes (Québec, 2022). Cette formulation dans le guide souligne l'importance de la restauration écologique adaptée aux besoins des communautés locales et à l'attachement de la population à l'écosystème préexistant. Les critères de réussite d'un projet de restauration doivent tenir compte de l'autosuffisance, de l'utilité et de l'esthétique de l'écosystème restauré, en accord avec les attentes sociopolitiques locales (Van Andel & Aronson, 2012). (Figure 2.1).

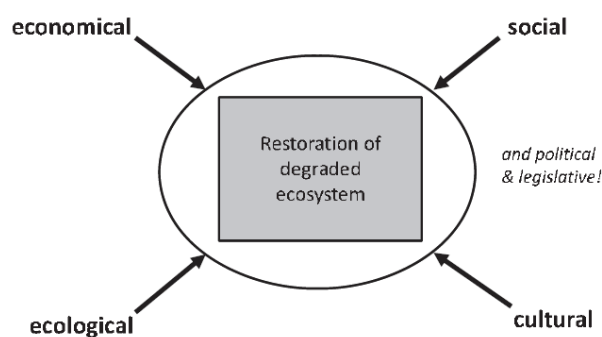


Figure 2.1 Composantes principales pour la définition d'un état restauré satisfaisant, modifié par Van Andel et Aronson, d'après Aronson, 2010 (Van Andel & Aronson, 2012).

En somme, la législation québécoise encadre de manière complexe la gestion des impacts environnementaux des projets miniers, en mettant l'accent sur l'implication citoyenne et la nécessité de solutions environnementales adaptées et efficaces. Cependant, il peut être considéré regrettable que la réglementation québécoise n'implique pas de consultation citoyenne lors de la révision des plans de restauration tous les 5 ans.

Ce contexte législatif alimente un besoin urgent de recherche scientifique appliquée dans l'industrie minière. Ce besoin de recherche scientifique doit viser à développer des solutions qui répondent aux exigences légales et aux attentes sociales, tout en optimisant les coûts pour l'industrie minière, notamment en matière de gestion des risques environnementaux.

2.1.3 Du concept à la pratique : la restauration écologique

Comme cela a été décrit précédemment, la restauration d'écosystèmes sur des substrats de rejets miniers représente un défi majeur, nécessitant le développement urgent de techniques efficaces, rapides et économiques pour les compagnies minières. Ce processus implique l'intégration de multiples disciplines scientifiques relevant de la restauration écologique.

L'écologie de la restauration, une branche de l'écologie appliquée, joue un rôle central dans ce contexte. Elle utilise les connaissances théoriques en écologie pour développer des processus techniques de restauration pratique. Ce domaine sert de pont entre l'écologie fondamentale, qui fournit les concepts scientifiques, et la science technique de la restauration écologique, qui se concentre sur les applications pratiques (Palmer et al., 2016a).

Cette interaction entre ces disciplines est cruciale pour l'avancement et l'efficacité des techniques de restauration écologique, notamment dans les milieux hautement perturbés comme les rejets miniers. Cette relation est illustrée dans la Figure 2.2 (Palmer et al., 2016b), qui dépeint les liens entre l'écologie théorique, l'écologie de la restauration, et la restauration écologique. Cette représentation met en lumière l'importance d'une approche intégrée et multidisciplinaire pour relever les défis complexes de la restauration d'écosystèmes perturbés.

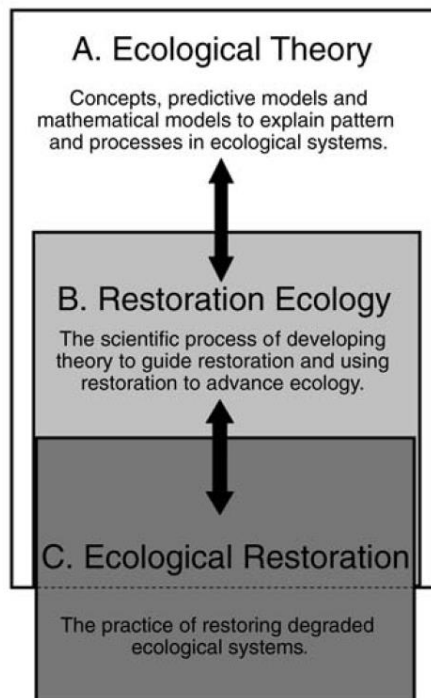


Figure 2.2 Relations entre écologie théorique, écologie de la restauration et restauration écologique (tirée de Palmer et al. 2016b)

2.2 Production et types de rejets miniers

La gestion des rejets miniers, sous-produits de l'extraction du minerai et du métal, représente un défi majeur dans le secteur minier (Bussière & Guittonny, 2020). Ces rejets, souvent considérés comme des déchets faute de valeur économique, sont généralement stockés plutôt que recyclés ou revalorisés (Hudson-Edwards et al., 2011; Lottermoser, 2011). Ils sont parfois qualifiés de « déchets miniers ». Le terme « déchet » est toutefois complexe et sujet à controverse, menant à privilégier le terme « rejet » pour une caractérisation terminologique scientifique (Matinde et al., 2018). Lorsqu'ils sont entreposés et mis en végétation, on considère ce type de matériaux comme des technosols qui sont des sols de nature anthropique dont les caractéristiques sont liées à l'activité industrielle (exemples : gravats de construction, remblai, matériau excavé, béton, asphalte, briques) (Rossiter, 2007).

Les rejets miniers sont extrêmement hétérogènes et leur composition varie largement, comprenant des métaux, de la gangue, des hydrocarbures, des sédiments, des résidus métallurgiques, et divers additifs chimiques (Hudson-Edwards & Dold, 2015; Jamieson, 2011; Syed, 2012). De manière simplifiée, ils se divisent essentiellement en trois catégories pouvant former des technosols (Figure 2.3) :

- Le mort-terrain : Il s'agit de sol et de matériaux meubles superficiels déplacés pour accéder au dépôt minéral. Généralement, le mort-terrain présente peu de risques environnementaux et peut être utilisé pour les travaux de restauration post-exploitation (Maiti & Ahirwal, 2019; Sheoran et al., 2010).
- Les roches stériles : Ces rejets solides, obtenus lors du déblaiement des roches pour accéder aux gisements, ont une concentration de minéraux trop faible pour être économiquement exploitables. Leur granulométrie varie selon la minéralogie et les méthodes d'extraction (Bolan et al., 2017; Matinde et al., 2018). Ils sont souvent entreposés en tas, appelés haldes à roches stériles ou terrils (Aubertin et al., 2002).
- Les résidus de traitement : Ils se présentent souvent sous forme de boues, composées entre autres d'eau et de particules fines, résultant des étapes de broyage et de traitement chimique en usine. Ces résidus, dépourvus de valeur économique, peuvent être stockés en remblais, empilés à sec ou déversés dans des bassins à résidus, et parfois même dans des cours d'eau, bien que cette pratique soit de plus en plus rare (Aubertin et al., 2002; Edraki et al., 2014; Rusdinar et al., 2013).

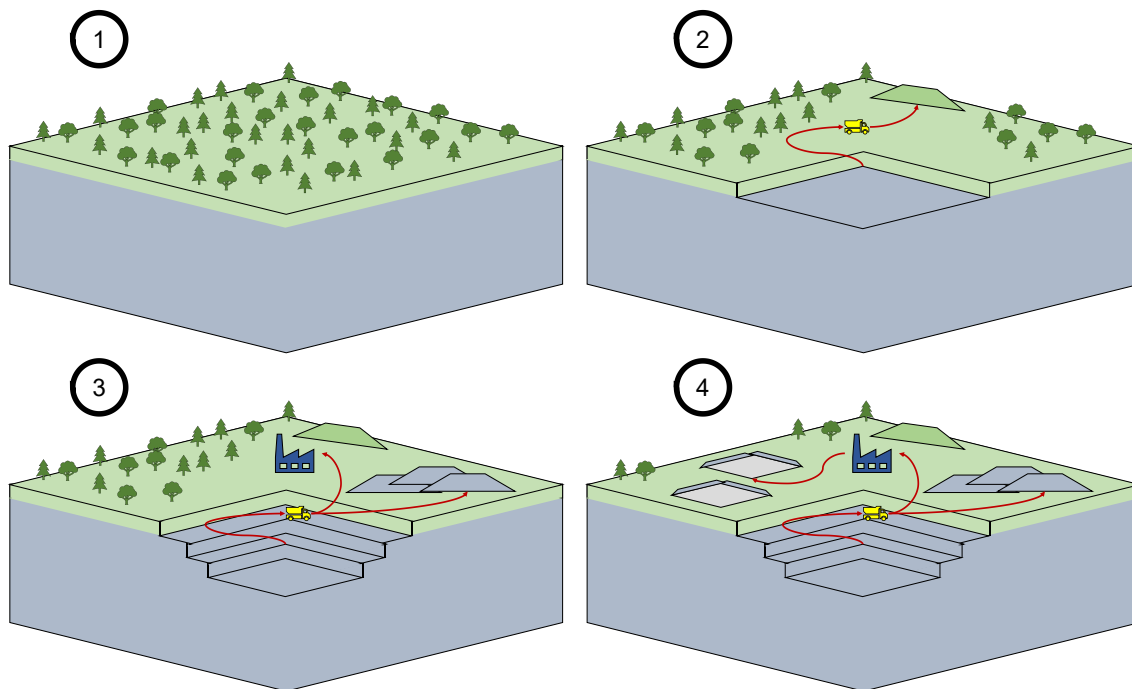


Figure 2.3 Représentation simplifiée des étapes de mise en production et de gestion des déchets d'une mine à ciel ouvert. 1 : écosystème non perturbé, 2 : début de l'installation, retrait et stockage du mort-terrain, 3 : extraction de minerai, la partie économique s'en allant vers l'usine de traitement, le reste (les roches stériles) vers les haldes à stériles, 4 : Les boues et autres rejets de l'usine de traitement s'en vont vers les parcs à résidus.

2.3 Cadre théorique

2.3.1 Concept de succession écologique

La succession écologique est un concept clé en écologie, décrivant la dynamique de formation et de développement d'un écosystème à la suite d'une perturbation (Figure 2.4). Cette dynamique varie selon que la perturbation a laissé ou non un héritage biologique, définissant respectivement la succession secondaire ou primaire (Del Moral et al., 2007; Walker & del Moral, 2001, 2003, 2009a, 2009b, 2011; Walker et al., 2007).

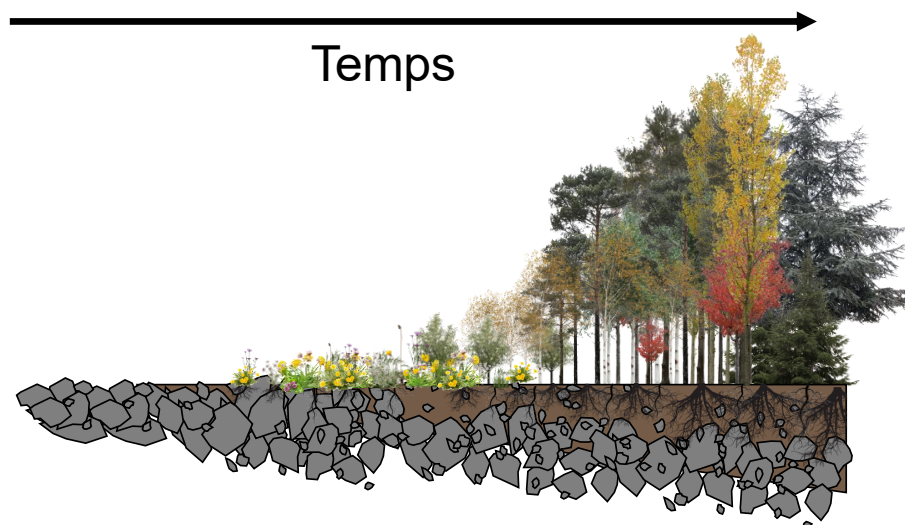


Figure 2.4 Schématisation de la succession primaire de la forêt boréale mixte canadienne, comportant une sère herbacée (avec entre autres *Anaphalis* spp., *Trifolium* spp., *Pilosella* spp.), une sère arbustive (avec entre autres *Salix* spp.) et une sère forestière (début de sère avec entre autres *Betula* spp. et *Pinus* spp. jusqu'à la sère la plus vieille avec entre autres *Thuja occidentalis*)

Dans le contexte de la restauration de sites miniers, la succession primaire est souvent observée, correspondant au changement d'espèces sur un substrat dépourvu d'héritage biologique (Kohout et al., 2017; Walker & Del Moral, 2003, 2009b). Contrairement à la succession secondaire, où une perturbation laisse un héritage biologique et/ou pédologique (par exemple : un sol avec une banque de graines après une coupe à blanc), la succession primaire se déroule sur des substrats principalement composés de matériel minéral (Chen et al., 2017; Walker & del Moral, 2009a). La succession primaire est observée dans des contextes tels que les retraits de glacier, les bordures de routes, les coulées de lave ou les substrats volcaniques (Chang & Turner, 2019; Del Moral et al., 2007; Maier et al., 2020; Van Andel & Aronson, 2012; Wali, 1999; Walker & Del Moral, 2003, 2009a). Ces écosystèmes servent de référence pour la restauration écologique des sites miniers, comme cela est illustré dans la Figure 2.5, qui présente différentes échelles spatiales et héritages biologiques en fonction du type de succession primaire (Van Andel & Aronson, 2012).

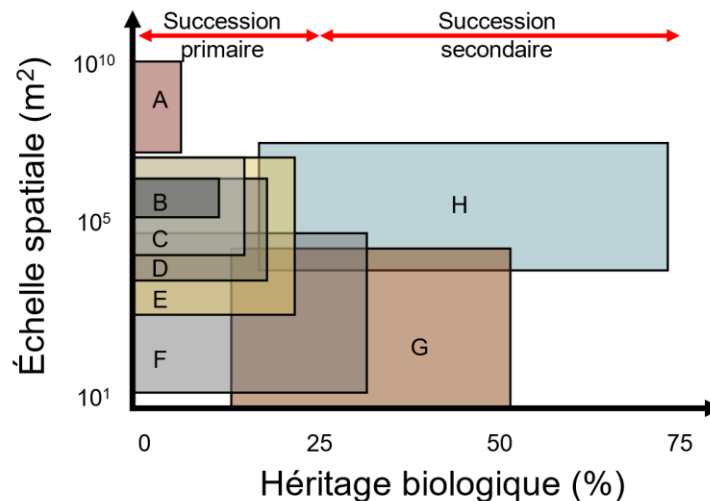


Figure 2.5 Héritage biologique et échelles spatiales selon le contexte de succession primaire, adaptée de Van Andel, 2012. (A) Volcans ; (B) mines ; (C) moraines glaciaires ; (D) transports ; (E) dunes ; (F) affleurements rocheux ; (G) glissements de terrain ; (H) plaines inondables.

L'étude des chronoséquences est depuis longtemps une approche empirique pour explorer et définir des concepts en écologie, particulièrement dans le cadre de la succession écologique (Marleau, 2009; Marleau et al., 2011; Walker & del Moral, 2001). Toutefois, cette méthode présente des limites, notamment en raison de la spécificité de chaque site étudié, ce qui peut entraîner des difficultés à généraliser les résultats obtenus, concernant les mécanismes de la succession primaire et la prédiction de la trajectoire de l'écosystème (Marleau et al., 2011).

Pour surmonter ces limites, des recherches ont été orientées vers l'étude stœchiométrique des mécanismes impliqués dans la succession primaire. Cette approche permet de mieux comprendre les interactions entre l'environnement et les espèces, ainsi que les relations interspécifiques durant la succession (Marleau et al., 2011). Dans une étude menée sur un substrat volcanique aux États-Unis, Marleau et collaborateurs ont mis en évidence que l'équilibre entre les relations de compétition et de facilitation entre les espèces au cours de la première sère (stade successional) d'une succession primaire peut influencer la dynamique des sères ultérieures (Marleau et al., 2011). Les chercheurs ont notamment

découvert que cet équilibre était significativement lié aux rapports azote/phosphore (N/P) dans les plantes, le sol et la matière organique en décomposition (Marleau et al., 2011).

Des chercheurs ont essayé de généraliser certains mécanismes concernant la dynamique de la succession écologique à travers différentes échelles temporelles et spatiales (Walker & Wardle, 2014) (Figure 2.6). Ils mettent en lumière que les mécanismes à court terme, en particulier ceux survenant à l'échelle microscopique jusqu'à l'échelle du paysage, sont fortement influencés par l'utilisation du territoire par l'être humain (introduction de nouvelles espèces, destruction des habitats, restauration écologique, etc.) (Walker & Wardle, 2014) (Figure 2.6). Ces mécanismes comprennent les réponses physiologiques rapides (de la seconde à la journée) des plantes à leur milieu, entre autres exemples : l'herbivorie, le cycle de l'azote, la décomposition de la matière organique. Ces mécanismes observables à l'échelle spatiale locale (à l'échelle du site minier, par exemple) affectent à leur tour la dynamique de succession à l'échelle du paysage sur des périodes allant de quelques décennies à des siècles.

En retour, les processus microscopiques sont influencés par la composition spécifique et les cycles biogéochimiques se produisant à l'échelle du paysage (Walker & Wardle, 2014). Cette interaction rétroactive est cruciale dans les travaux de restauration. Par exemple, dans certains cas de succession primaire, les espèces d'une sère peuvent empêcher la succession des espèces de la sère suivante. Cela peut se produire lorsque certaines espèces pionnières laissent des litières de piètre qualité ou produisent des composés phénoliques rendant le sol inadapté à la colonisation par d'autres espèces (Berendse, 1998). Toutefois, ces rétroactions négatives restent relativement rares, la facilitation étant plus courante que la compétition dans les premiers stades de la succession, en raison de la disponibilité en ressources et en niches écologiques (Walker & Wardle, 2014).

Cette généralisation conceptuelle implique que les pratiques de restauration écologique devraient tenir compte des mécanismes à court terme et des contraintes à long terme de la succession pour permettre des changements holistiques³ et accroître les chances de succès

³ L'utilisation du terme « holistique » renvoi ici à la définition écologique du terme, à propos de la considération d'un système dans son ensemble, en tenant compte de toutes ses composantes et de leurs interactions à différentes échelles spatiales et temporelles (Jørgensen et al., 1979, Li et al., 2000, Naveh et al., 2000).

en restauration. Lors de la restauration d'un écosystème à la suite d'une perturbation ne laissant aucun héritage biologique (comme dans le cas d'un site minier), l'intervention est donc préférentiellement souhaitable lors des premières sèes.

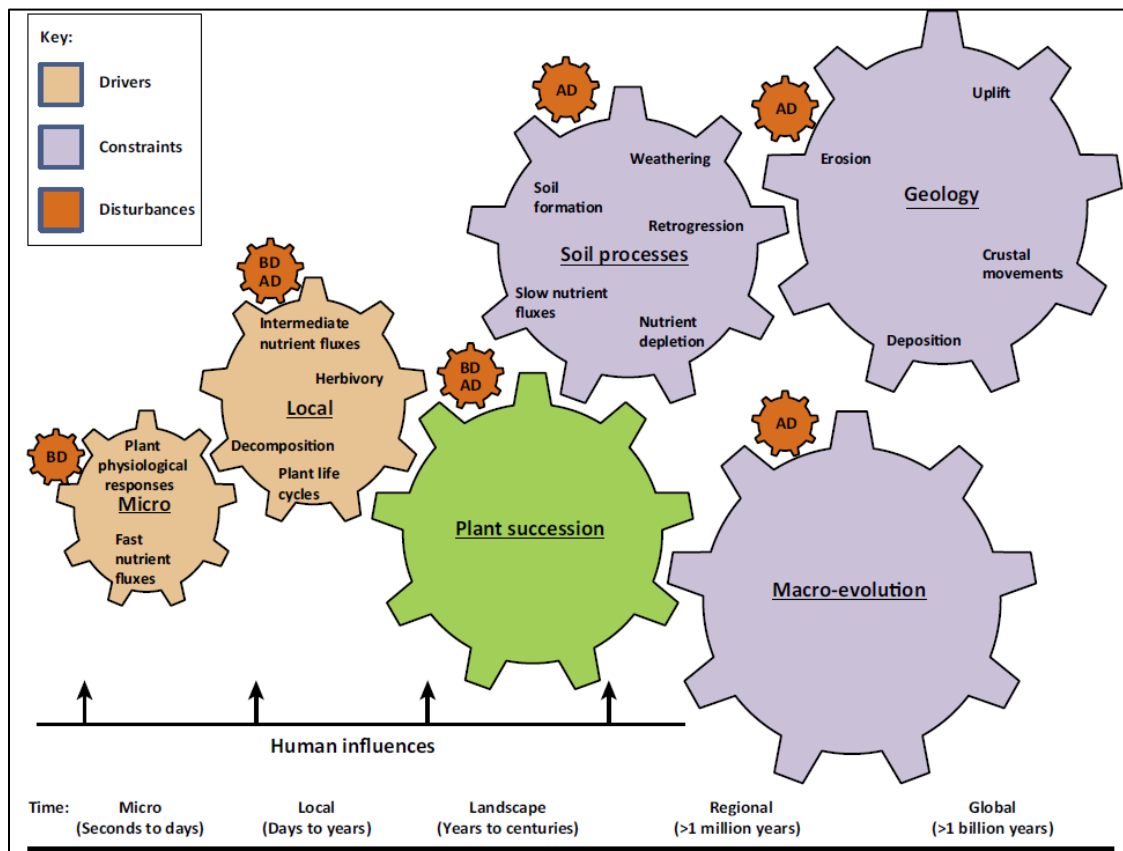


Figure 2.6 Représentation conceptuelle des processus spatio-temporels de la succession écologique. BD : *biological disturbances* (perturbations biologiques), AD : *abiotic disturbances* (perturbations abiotiques). Cette illustration se trouve dans l'article de Walker et Wardle de 2014.

2.3.2 Règles d'assemblages et de réponses

Keddy a développé dans son article en 1992 le concept de règles d'assemblages et de règles de réponse. Ces règles permettent de réaliser des prédictions concernant l'établissement d'espèces dans un milieu donné (Keddy, 1992). Ces règles fonctionnent en considérant des filtres à l'établissement des espèces (Keddy, 1992). Les règles d'assemblages permettent de déterminer quelles espèces seront présentes *a priori* dans un milieu donné, en tenant compte de toutes les caractéristiques qui définissent le milieu (Keddy, 1992). Les règles de

réponse permettent de déterminer comment ces espèces vont s'adapter à un changement dans le milieu (comme une perturbation par exemple) (Keddy, 1992). Elles vont en quelque sorte permettre de prédire comment les communautés vont évoluer *a posteriori* de ce changement dans les caractéristiques du milieu (Keddy, 1992).

Selon Keddy, il y a trois grands types de filtres (Figure 2.7) :

- Le filtre « géographique », basé sur les caractéristiques géographiques régionales : entre autres, le pool d'espèces, le climat, la topographie, l'hydrologie de la zone à l'échelle spatiale et temporelle la plus large.
- Le filtre « environnemental », prenant en compte les conditions abiotiques, les perturbations et l'hétérogénéité de l'habitat.
- Le filtre « d'interactions biotiques », incluant la compétition, le mutualisme, la symbiose, ainsi que toutes les autres interactions trophiques, à l'échelle la plus réduite.

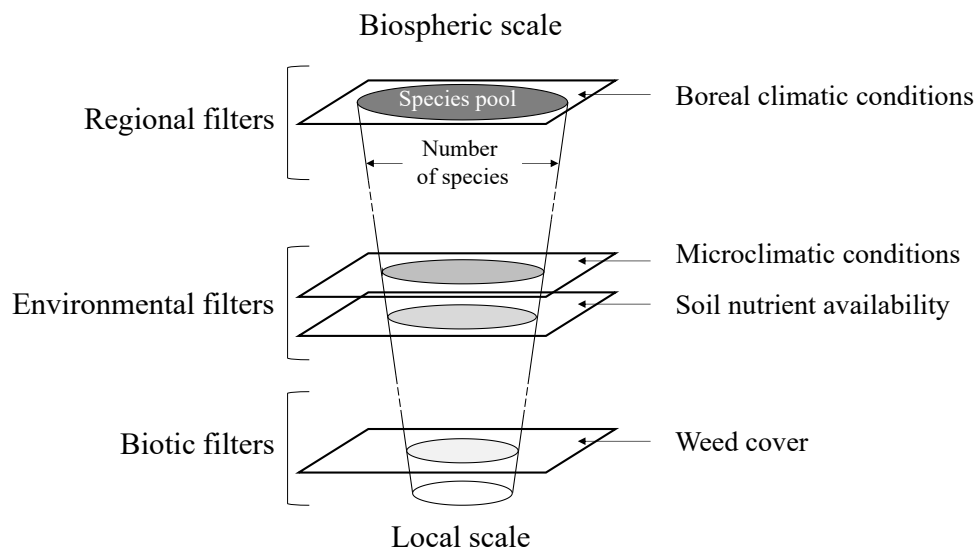


Figure 2.7 Filtres sélectifs en fonction de l'échelle, représentation conceptuelle adaptée au contexte du projet de recherche de maîtrise de Simon Taurines, d'après les travaux de Keddy, 1992. *Regional filters* : filtres géographiques ; *Environmental filters* : filtres environnementaux ; *Biotic filters* : filtres d'interactions biotiques (Taurines, 2019).

En pratique, ce concept est difficilement transposable en restauration écologique à cause de la multitude de facteurs pouvant expliquer la présence ou l'absence des espèces pouvant *a priori* s'installer dans un milieu. L'établissement d'un tel modèle prédictif nécessite un grand volume de données et de variables. Cependant, l'accumulation empirique de connaissances basées sur des études *in situ* pourrait permettre dans le futur la mise en pratique de ce type de concept. C'est la raison pour laquelle les études de cas et de sites sont tout aussi importantes que les études à plus grande échelle spatiale ou temporelle. Par accumulation, elles permettront de produire des méta-analyses qui contribuent à la généralisation de concepts en écologie de la restauration (Gann et al., 2019; Young et al., 2022). De plus, les études à trop large échelle contraignent souvent notre capacité à saisir les mécanismes sous-jacents spécifiques aux phénomènes écologiques observés (Levin, 1992). Ces études risquent de masquer les interactions fines et les processus locaux essentiels à la compréhension globale (Levin, 1992). Ainsi, une approche multi-échelles est cruciale pour démêler les causes et les conséquences des modèles écologiques, permettant de capturer la complexité des systèmes naturels et d'élaborer des prévisions plus précises des réponses écologiques aux facteurs environnementaux (Levin, 1992).

À l'heure actuelle, les efforts de restauration sont trop souvent jugés sur la base de l'acceptabilité sociale ou de critères simples tels que la diversité spécifique, sans une compréhension approfondie des dynamiques écologiques sous-jacentes ou des trajectoires potentielles de l'écosystème restauré (Giardina et al., 2007; Hallett et al., 2013). Cette approche réductrice risque de négliger des aspects cruciaux tels que la capacité intrinsèque de l'écosystème à se régénérer, les interactions complexes entre les espèces, et l'adéquation entre les espèces introduites et les conditions environnementales locales (Hallett et al., 2013).

L'anticipation de la trajectoire d'un écosystème post-restauration est un défi complexe qui requiert une compréhension holistique des processus écologiques, tels que la succession écologique et les règles d'assemblages et de réponses. Sans cette compréhension, le choix des espèces à réintroduire peut manquer de cohérence avec les capacités et limitations du milieu récepteur, conduisant potentiellement à des échecs de restauration ou à des succès de courte durée (Giardina et al., 2007).

2.3.3 Principes fondamentaux en écologie de la restauration

2.3.3.1 État de référence avant perturbation

La restauration écologique est la tentative de rétablissement d'un écosystème perturbé vers son état historique connu avant la perturbation (Palmer et al., 2016b). Cette démarche exige une compréhension approfondie de l'état écologique original du milieu concerné. Toutefois, étant donné la nature hautement dynamique des écosystèmes, le simple fait d'introduire ou de réintroduire des espèces ne garantit pas la restitution fidèle de la dynamique écologique originale. Les approches précédemment adoptées en matière de restauration ont souvent conduit à des tentatives improvisées, infructueuses, obsolètes et parfois même nuisibles aux communautés d'espèces indigènes (Palmer et al., 2016b).

Un écosystème de référence est un écosystème modèle utilisé dans les projets de restauration écologique pour établir les conditions cibles d'un site dégradé (Durbecq et al., 2020). Il se base sur des sites non dégradés présentant des caractéristiques environnementales similaires (Durbecq et al., 2020). En comparant les sites à restaurer avec ces écosystèmes de référence, les praticiens peuvent définir des objectifs précis pour la composition des espèces, la structure des habitats et les processus écologiques (Durbecq et al., 2020). La définition d'un écosystème de référence doit prendre en compte la nécessité d'avoir plusieurs points de comparaison correspondant à différents stades de succession, afin de mieux refléter les dynamiques écologiques et les conditions spécifiques du site. Cette approche permet de définir des objectifs précis et adaptatifs pour chaque phase du projet de restauration, garantissant une progression cohérente vers un écosystème fonctionnel et résilient. Il peut aussi être pertinent d'avoir pour objectif la restauration écologique de l'écosystème vers les caractéristiques de l'écosystème adjacent au milieu perturbé (Bussière & Guittonny, 2020).

2.3.3.2 Approche adaptative et/ou améliorative

Dans bien des cas, la succession primaire spontanée plutôt que des travaux de restauration interventionnistes peut s'avérer utile, fiable et peu coûteuse (Prach & Hobbs, 2008) (Figure 2.8). Pour savoir si le choix de laisser le développement successional se faire dans le milieu (approche adaptative) est plus efficace et plus rentable que d'adopter une approche

interventionniste (ou méliorative), il faut *a priori* évaluer où va se situer le milieu sur un gradient de stress et de productivité (Prach & Hobbs, 2008). Un milieu impliquant une trop grande productivité pour un organisme en particulier risque d'engendrer une dominance de cette espèce sur les autres (dominance par une espèce allochtone par rapport aux espèces indigènes, par exemple) (Prach & Hobbs, 2008). Un niveau de stress trop haut dans le milieu ne permettra qu'aux espèces fortement tolérantes de s'installer et ne permettra donc pas la restauration de l'écosystème (Prach & Hobbs, 2008). L'approche méliorative dans des travaux de restauration sera pertinente lors des cas extrêmes, impliquant un stress fort ou une productivité trop importante (Prach & Hobbs, 2008). Dans ce cas, les coûts de la restauration augmentent et le succès des travaux selon le critère de retour à son état original ou de référence est plus incertain (Prach & Hobbs, 2008). Une approche hybride est aussi possible.

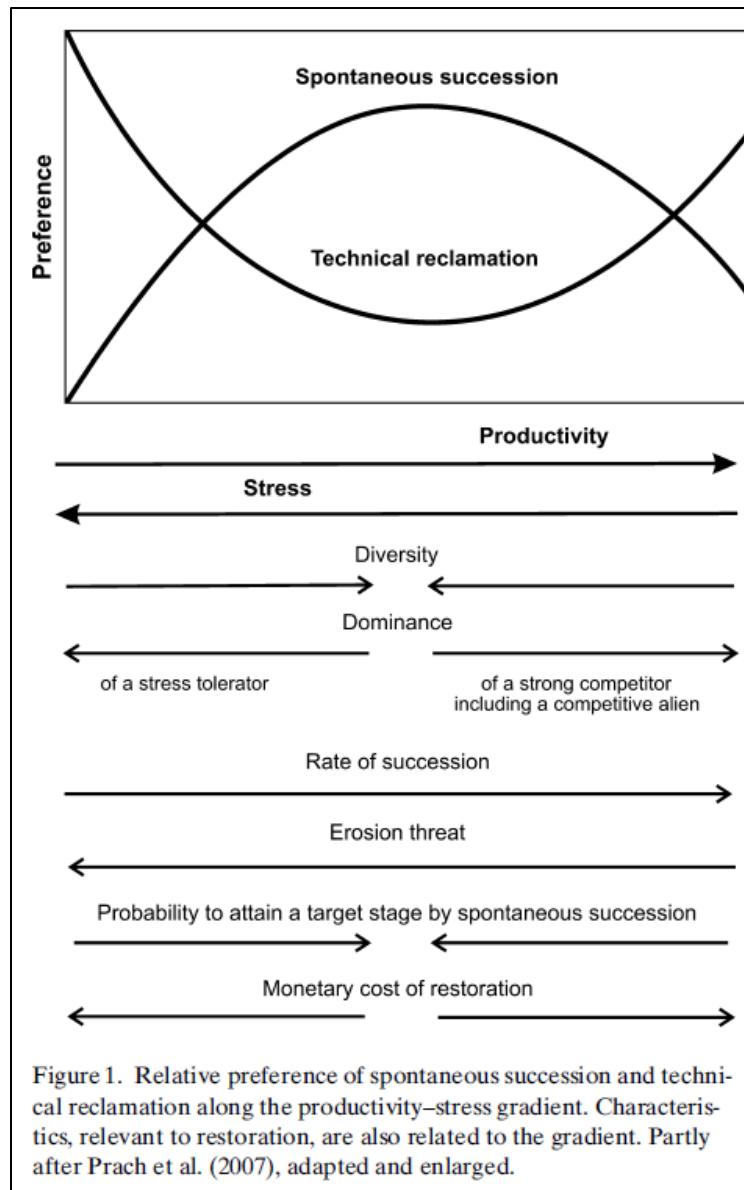


Figure 2.8 Représentation des deux principales approches de restauration à privilégier (*technical reclamation* : méliorative, active / *spontaneous succession* : adaptative, passive) le long d'un gradient stress-productivité végétale, en fonction de différents axes, objectifs et issues désirés pour la restauration d'un site perturbé. Illustration provenant de l'ouvrage de Prach et Hobbs en 2008, créée d'après les travaux de Prach et al. 2007.

2.3.3.3 Nouveaux écosystèmes

La succession spontanée peut amener à la formation de nouveaux écosystèmes, différents de ceux en place avant la perturbation, cependant tout aussi diversifiés en matière d'espèces (Hobbs et al., 2006; Hobbs et al., 2009; Seastedt et al., 2008). Hobbs a beaucoup travaillé sur ces concepts et il s'est exposé à des critiques de ses travaux, en raison de controverses scientifiques sur la définition du but à atteindre dans la restauration écologique (Corlett, 2015; Hobbs et al., 2006; Hobbs et al., 2009; Jacobs et al., 2015; Murcia et al., 2014; Seastedt et al., 2008). Aucun consensus scientifique n'est aujourd'hui établi et la question de la définition de la réussite de travaux de restauration revient bien souvent à l'atteinte de l'objectif fixé dans le cahier des charges prévu pour les travaux, ou bien aux exigences législatives des États en matière de remise en état des sites perturbés (Jacobs et al., 2015).

Parfois, pour définir la réussite de travaux de restauration, il a également fallu tenir compte des communautés autochtones vivant proches du site. Leurs exigences en matière d'usage du site et des services écologiques qui y sont associés (comme la chasse et la pêche) peuvent définir une toute nouvelle trajectoire à l'écosystème (Higgs, 2005). À partir de la connaissance des communautés des Premières Nations et des Inuits concernant la nature au Canada, il a été possible de réintroduire certaines espèces clés culturelles, comme le cèdre rouge (*Thuja plicata*), également utiles dans certains travaux de restauration (Garibaldi & Turner, 2004). Il est difficile de considérer le savoir de ces populations pour la restauration écologique, sans tenir compte de leurs besoins (nouveaux services écologiques) malgré la redéfinition de la trajectoire de l'écosystème que cela implique (Anderson & Barbour, 2003). Concilier approche de restauration écologique et intégration du savoir culturel des communautés des Premières Nations d'Amérique du Nord représente un défi majeur sur les plans éthiques (respect des savoirs et de la culture), écologiques (en matière d'atteintes des objectifs de restauration), techniques et scientifiques (Cissé et al., 2023; Higgs, 2005).

2.3.4 Facteurs du sol influençant l'établissement d'une communauté d'essences forestières boréale en succession primaire

2.3.4.1 Propriétés physiques du sol pour les besoins des plantes

On peut caractériser physiquement le sol pour le besoin des plantes de plusieurs manières. L'ensemble des définitions et équations pour la caractérisation physique du sol se trouve en ANNEXE A

Bockstette et coll. ont tenté de mettre en évidence une relation entre la masse volumique sèche du sol et l'enracinement des peupliers faux-trembles sur les parcs à résidus d'un site minier en Alberta (Bockstette et al., 2017). La scarification des résidus a permis la réduction de la masse volumique sèche, mais n'a pas nécessairement facilité la croissance racinaire des peupliers faux-trembles et leur ancrage au substrat (Bockstette et al., 2017). Dans les 30 premiers cm de profondeur sous la surface du sol, les auteurs ont mesuré une réduction significative de la masse volumique après scarification (1.42 g.cm^{-3} avec scarification, 1.99 g.cm^{-3} sans scarification).

Un apport de matière organique sous forme de compost organique pouvait réduire la masse volumique apparente du sol et augmenter la croissance des arbres (Larcheveque et al., 2013; McGrath & Henry, 2016). Une étude comparative (avec témoin négatif) a permis de conclure qu'un apport de 25% de compost (en termes de fraction volumique) dans un sol compacté (bord d'autoroute) réduisait la masse volumique apparente de 1.5 g.cm^{-3} à 1 g.cm^{-3} (McGrath & Henry, 2016). Ils ont également observé une augmentation de la croissance racinaire et aérienne d'érables hybrides (croissance aérienne de 10-15 cm sur témoin, croissance aérienne de 30-35 cm sur traitement à 25% de compost, avec différence significative) ainsi qu'à une augmentation de la chlorophylle dans les feuilles (différence significative entre le témoin et les traitements avec compost) (McGrath & Henry, 2016).

La Table 2.1 présente un ensemble de valeurs de la masse volumique apparente que l'on peut trouver sur rejets miniers et sur sols forestiers, obtenues lors d'études réalisées au Canada.

Table 2.1 Valeurs moyennes ou gamme de valeurs de masse volumique apparente selon le type de substrat (rejets miniers, sols forestiers, etc.), obtenues lors d'études réalisées principalement au Canada.

Valeur moyenne ou gamme de valeur	Matériau	Localisation	Références
0,9 g/cm ³	Horizon organique	Abitibi, QC	Guittonny et al. 2016
1,3 g/cm ³	Résidus	Abitibi, QC	
1,33 g/cm ³	Résidus	Abitibi, QC	
1,56-1,65 g/cm ³	Stériles	Abitibi, QC	Taha et al. 2019
2,008 g/cm ³	Stériles	Abitibi, QC	Lahmira et al. 2019
1,65-1,78 g/cm ³	Stériles	Abitibi, QC	Benarchid et al. 2019
0,05-0,15 g/cm ³	Horizon FH (O, litière) d'un podzol après coupe forestière	Zone boréale Québec	Andrieux et al. 2019
0,73-1,6 g/cm ³	Horizon minéral (15 cm de la surface) d'un podzol après coupe forestière	Zone boréale Québec	
1,09 g/cm ³	Horizon minéral (10 cm de la surface) d'un luvisol	Abitibi, QC	Perreault et al. 2017
1,25 g/cm ³	Sol forestier non perturbé (30 cm de profondeur)	Abitibi, QC	Brais et al. 1997
1,43 g/cm ³	Chemin forestier (30 cm de profondeur)	Abitibi, QC	
0,83-0,86 g/cm ³	10-15 cm de bois raméal fragmenté mélangé avec les 30 premiers cm du sol forestier après coupe	Région du Prince George, BC, Canada	Sanborn et al. 2004
1,15-1,25 g/cm ³	Sol forestier après coupe sous-solée (labourée) à 60 cm de profondeur	Région du Prince George, BC, Canada	
0,9-1,12 g/cm ³	Horizon organique de sol forestier après coupe (0-20 cm)	Région du Prince George, BC, Canada	
1,86 g/cm ³	Stériles (in situ)	Dispositif A, Lapa, Abitibi, QC	Taurines 2019
1,43 g/cm ³	BRF (2 cm d'épaisseur) par-dessus stériles (in situ)	Dispositif A, Lapa, Abitibi, QC	
1,69 g/cm ³	Stériles (in situ)	Dispositif B, Lapa, Abitibi, QC	
1,87 g/cm ³	BRF (2 cm d'épaisseur) mélangé aux stériles (in situ) sur 15 cm de profondeur	Dispositif B, Lapa, Abitibi, QC	
1,55 g/cm ³	BRF (2 cm d'épaisseur) par-dessus stériles (in situ)	Dispositif B, Lapa, Abitibi, QC	

La macroporosité participe l'aération des matériaux silteux comme souvent les résidus, mais dans le cas des roches stériles, elle peut contribuer au drainage excessif du substrat, rendant l'acquisition de l'eau par les plantes difficile (Bussière & Guittonny, 2020). La Table 2.2 présente quelques valeurs de la macroporosité obtenues lors de travaux de recherche sur les résidus miniers.

Table 2.2 Valeurs moyennes ou gamme de valeurs de la macroporosité mesurée sur résidus miniers (selon différents contextes) obtenues lors de travaux de recherche sur la végétalisation de résidus miniers.

Valeur moyenne ou gamme de valeur	Matériau	Localisation	Références
6,0%	résidus	Canadian Malartic, Abitibi-	Guittonny et al. 2016
15,0%	50 cm d'horizon organique et résidus	Témiscamingue, Québec, Canada	
14,0%	20 cm d'horizon organique et résidus		
12,0%	compost mélangé à 20 cm de sol minéral		
12,0%	compost mélangé aux résidus		
2,6%	résidus	Canadian Malartic, Abitibi-Témiscamingue, Québec, Canada	Guittonny, Meddeb, Barrette 2016
13,0%	résidus	mine d'Or au Sud-Est de la Nouvelle-Zélande	Schroeder et al. 2006
24,0%	horizon organique		

En 2016, Guittonny et al. ont mis en évidence que l'utilisation d'herbacées (particulièrement de graminées) pouvait améliorer la macroporosité d'un substrat composé de résidus miniers (Guittonny-Larchevêque et al., 2016). Ces auteurs ont laissé entrevoir la possibilité d'utiliser ces plantes pour améliorer les conditions physiques du sol comme la macroporosité pour la reforestation des résidus miniers (Guittonny-Larchevêque et al., 2016).

Un article paru en 2016 dans *Catena* présente les résultats des processus de pédogénèses sur plusieurs propriétés hydrologiques et sur la macroporosité de résidus d'un site minier situé au Sud Est de l'Espagne (Pellegrini et al., 2016). Les auteurs ont montré que la présence d'argiles de type smectites dans les résidus, combinée au manque de matière organique dans le sol, a entraîné la formation de fissures dans le sol (Pellegrini et al., 2016). Cela a affecté la masse volumique sèche et la macroporosité, ainsi que la conductivité hydraulique du sol et donc la distribution des éléments dans le sol, notamment d'éléments phytotoxiques comme le zinc, le plomb, le cadmium, le manganèse et le nickel (Pellegrini et al., 2016). Ces processus pédogénétiques dans les résidus miniers en l'absence de matière organique peuvent provoquer des risques environnementaux et sanitaires importants, comme nous le verrons dans la partie sur les propriétés chimiques des rejets miniers.

Il est possible par ailleurs de mesurer l'agrégation des sols pour mieux apprécier la formation des sols lorsque de la matière organique est apportée à un substrat minéral (Luna et al., 2016). Un protocole pour mesurer l'agrégation et des résultats non publiés portant sur un des dispositifs expérimentaux conçus dans le cadre de cette thèse (CHAPITRE 3 et CHAPITRE 5) est disponible en ANNEXE C (protocole) et en ANNEXE D (résultats).

2.3.4.2 Conditions microclimatiques

Les conditions microclimatiques correspondent – sans s'y limiter – à la microtopographie, à la température et à la teneur en eau à la surface du sol. Ces conditions ont un impact important sur la colonisation, la survie, le développement et la croissance de la végétation en contexte de succession primaire.

2.3.4.2.1 Eau dans le sol

L'acquisition de l'eau est essentielle durant tout le cycle de vie des plantes.

Acquisition de l'eau durant la germination

La germination – qui correspond à l'étape d'embryogenèse de l'individu à partir d'une graine (Lambers et al., 2008) – est la première étape de ce cycle de vie concernée par l'acquisition de l'eau. Il y a trois phases dans la germination d'une graine (Figure 2.9). Dans la première phase de germination – l'imbibition, la graine sèche absorbe rapidement et exponentiellement l'eau du substrat, ce qui conduit à la réhydratation des cellules et de

certaines organites (Bewley, 1997; Bewley & Black, 2012). Cette absorption d'eau initie une reprise de l'activité métabolique qui avait été mise en dormance à la fin de la maturation de la graine (Bewley, 1997; Bewley & Black, 2012). La seconde phase est caractérisée par une acquisition d'eau stationnaire, où les protéines essentielles sont synthétisées pour le fonctionnement métabolique de la graine (Bewley, 1997; Bewley & Black, 2012). La troisième phase, parfois appelée phase post-germination, marque la reprise d'une absorption d'eau croissante et linéaire, soutenant la croissance externe de la graine, y compris l'émergence de structures vitales telles que la radicule, les feuilles et la tigelle. L'eau facilite la croissance cellulaire à travers la division cellulaire, qui est permise métaboliquement et nutritionnellement par la dégradation des polysaccharides, comme l'amidon présent dans les cotylédons, en métabolites nécessaires comme le glucose. Ainsi, l'eau sert non seulement de support à la croissance physique par l'élongation des structures de la plante, mais aussi comme élément essentiel dans les réactions biochimiques permettant cette croissance. Dans les trois phases de la germination, le seul facteur limitant est la quantité d'eau à l'état liquide que peut acquérir la graine à partir du substrat (Bewley, 1997; Bewley & Black, 2012; Lambers et al., 2008).

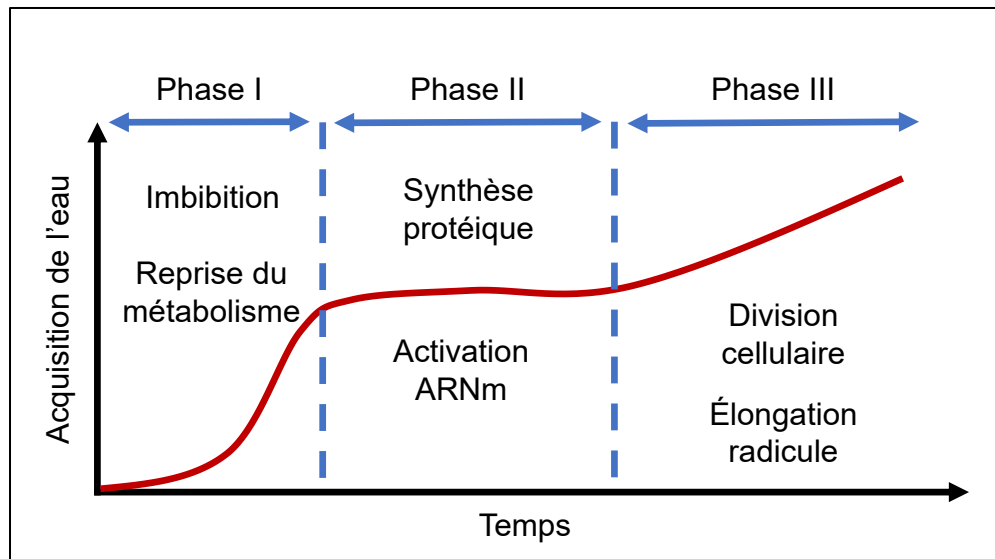


Figure 2.9 Évolution de l'acquisition de l'eau en fonction du temps lors de la germination d'une graine. On peut voir les principales étapes des 3 phases de la germination d'une graine. Réalisée à partir des travaux de Derek Bewley (Bewley, 1997; Bewley & Black, 2012).

Acquisition de l'eau après germination

L'eau est essentielle pour la respiration cellulaire, la photosynthèse et le transport des métabolites dans les plantes (Lambers et al., 2008). Elle compose 85% du cytosol des cellules et facilite le transport des glucides, nutriments et phytohormones (Lambers et al., 2008). Lors de la photosynthèse, les stomates ouverts entraînent une perte d'eau par transpiration (Chapin III et al., 2011; Jarvis & Slatyer, 1970; Lambers et al., 2008). La chaleur produite par l'activité métabolique est dissipée par les cellules du parenchyme lacuneux, utilisant l'eau comme thermorégulateur (Jarvis & Slatyer, 1970). L'eau se déplace selon un gradient de potentiel hydrique, favorisé par la vacuole et la pression de turgescence, pour équilibrer le potentiel hydrique cellulaire (Lambers et al., 2008). Le transport de l'eau des racines au sol est dirigé par la pression racinaire qui correspond à une différence de potentiel osmotique entre la racine et le sol (Lambers et al., 2008).

Mesurer le potentiel d'acquisition de l'eau du sol par les plantes

Les pores du sol forment un réseau ouvert et interconnecté, rempli d'eau et d'air (Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Hillel, 2003). L'eau s'écoule rapidement dans

les pores grossiers et est retenue dans les pores fins (Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Hillel, 2003). Elle devient inutilisable pour les plantes si elle s'écoule trop vite ou si elle est retenue dans les pores fins où les forces de rétention sont trop fortes (Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Hillel, 2003). Seule l'eau de la réserve utile est disponible pour les plantes terrestres (Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Hillel, 2003). Les précipitations atmosphériques se divisent en eau de ruissellement, eau de gravité et eau retenue lorsqu'elles atteignent le sol (Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Hillel, 2003). La Table 2.3 décrit les formes d'eau trouvées dans le sol.

Table 2.3 Formes d'eau du sol

Forme d'eau	Description	Références
Eau de ruissellement	Eau circulant parallèlement à la surface, visible principalement sur les surfaces en pente.	Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010
Eau de gravité	Eau entraînée en profondeur par gravité à travers les pores de différentes tailles, avec un écoulement rapide dans les couches perméables et ralenti dans les couches moins perméables.	Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Hillel, 2003
Eau retenue	Eau occupant les pores les plus fins (taille inférieure à 10 μ m), retenue par les forces capillaires et d'adsorption.	Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Hillel, 2003
Eau capillaire (Figure 2.10)	Type d'eau retenue, absorbable par les racines, occupant les pores fins (10 μ m à 0,2 μ m), formant des ponts capillaires entre les particules solides.	Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Hillel, 2003
Eau liée (Figure 2.11)	Type d'eau retenue, non absorbable par les racines, occupant les pores très fins (micropores, < 0,2 μ m), formant une pellicule autour des particules solides.	Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Hillel, 2003
Eau de constitution	Eau liée chimiquement au complexe argilo-humique par les groupes fonctionnels hydrophiles des acides humiques.	Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010

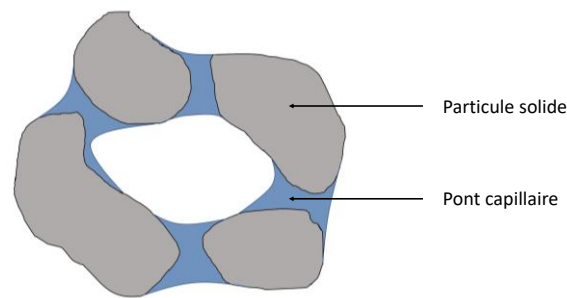


Figure 2.10 Schéma montrant la notion d'eau capillaire et de pont capillaire (ou ménisque) entre des particules solides.

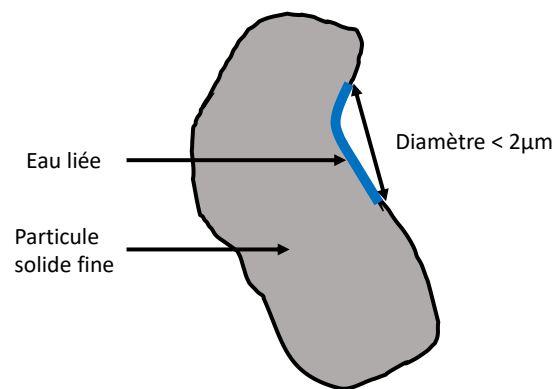


Figure 2.11 Schéma montrant une particule solide fine et la notion d'eau liée.

Dans le sol, le potentiel hydrique Ψ définit de quelle manière l'eau est absorbable par les plantes. Il est régi par trois états énergétiques : le potentiel gravitaire, le potentiel matriciel et le potentiel osmotique (Hillel, 2003). Le potentiel gravitaire Ψ_g est le potentiel énergétique de l'eau lorsqu'elle est soumise à la gravité (Hillel, 2003). C'est le cas par exemple lors de l'infiltration de l'eau dans le sol après précipitations atmosphériques. Le potentiel matriciel Ψ_m est le potentiel énergétique de l'eau lorsqu'elle est soumise aux forces de rétention (Hillel, 2003). C'est le cas par exemple des forces capillaires ou d'adsorption lors de l'occupation par l'eau des pores les plus fins du sol (micropores)

(Hillel, 2003). Enfin, le potentiel osmotique Ψ_o est le potentiel énergétique chimique de transfert de l'eau d'un compartiment hypotonique vers un compartiment hypertonique, par pression osmotique, jusqu'à l'équilibre isotonique (Hillel, 2003). Le potentiel osmotique est surtout intéressant lorsque l'on étudie la salinité des sols (Hillel, 2003).

L'équation du potentiel hydrique d'un sol se résume à (Hillel, 2003) :

$$\Psi = \Psi_g + \Psi_m + \Psi_o \quad (2.1)$$

Mais dans la majorité des sols (n'incluant pas les sols salins), l'équation du potentiel hydrique dans le sol s'écrit :

$$\Psi = \Psi_g + \Psi_m \quad (2.2)$$

Dans un horizon de sol perméable, non saturé, le potentiel gravitaire Ψ_g et le potentiel matriciel Ψ_m sont antagonistes (Hillel, 2003). Dans un sol non saturé, le potentiel matriciel de l'eau représente l'énergie que le sol doit avoir pour réaliser la succion, qui est le phénomène d'aspiration d'un fluide dans un vide (Hillel, 2003). La force de succion du sol est en relation avec la surface des particules solides (Hillel, 2003). Plus les particules sont fines, plus cette surface est importante (Hillel, 2003). Pour une teneur en eau donnée, plus la granulométrie des particules d'un sol est fine, plus la succion est forte (Hillel, 2003). Comme la succion résulte d'un phénomène d'aspiration d'un fluide par un vide, on la considère comme une différence de pression et s'exprime donc avec une unité de pression (Hillel, 2003).

Dans l'étude de l'acquisition de l'eau du sol par les plantes, les concepts définis précédemment résultent en trois classes : eau de gravité, réserve utile et eau inutilisable (Duchaufour, 2012; Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010). Ces classes dépendent de la texture, de la structure, de la porosité du sol et bien entendu de la teneur en eau du sol. La Table 2.4 présente ces 3 classes d'eau, ainsi que leurs caractéristiques. La Figure 2.12 offre une représentation de ces classes d'eau.

Table 2.4 Classes d'eau dans le sol

Classe d'eau	Description	Caractéristiques clés	Références
Eau de gravité	Eau qui remplit les macropores (diamètre > 50 nm), présente sous forme de front de mouillage après précipitations.	- Présente dans les macropores - Point de saturation lorsque toute la porosité est remplie - Capacité au champ quand les potentiels matriciel Ψ_m et gravitaire Ψ_g sont équilibrés - Point de ressuyage atteint lorsque le sol n'est plus saturé	Duchaufour, 2012; Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Rouquerol et al., 1994
Réserve utile	Eau capillaire et eau de drainage lent après formation de la nappe phréatique temporaire, utilisable par les plantes entre le point de ressuyage et le point de flétrissement permanent.	- Gamme d'eau comprise entre le point de ressuyage et le point de flétrissement permanent - Point de flétrissement temporaire : eau nécessaire à la survie, mais pas à la croissance - Point de flétrissement permanent : teneur minimale en eau que les racines peuvent absorber avant la mort de la plante	Duchaufour, 2012; Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010
Eau inutilisable	Eau restante dans le sol en dessous du point de flétrissement permanent, incluant l'eau liée et l'eau de constitution, ainsi que l'eau hygroscopique.	- Teneur en eau hygroscopique : eau qui reste en tout temps dans le sol - Eau la plus énergétiquement retenue autour des particules solides - Composée de l'eau liée et de l'eau de constitution - Capacité au champ restante et portion d'eau ne rentrant pas dans la composition de la capacité au champ	Duchaufour, 2012; Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010

Ces classes d'eau dans le sol catégorisant la valence des besoins physiologiques en eau des plantes restent très théoriques étant donné la variabilité dans la valeur du point de flétrissement selon les espèces. En effet, une espèce de plante aquatique n'aura pas les mêmes capacités de succion qu'une espèce xérophile (espèce extrémophile vivant dans des habitats très pauvres en eau) (Lambers et al., 2008).

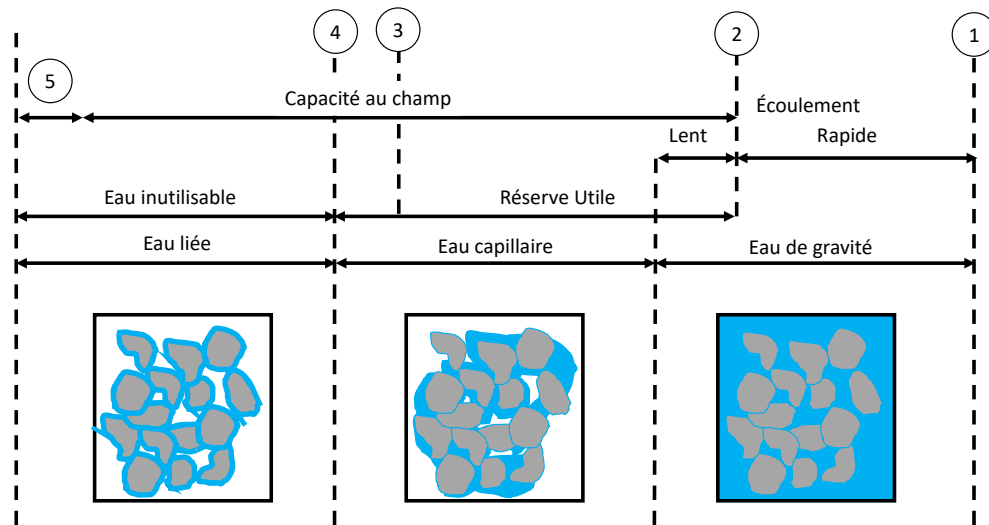


Figure 2.12 Représentation schématique des différentes classes d'eau dans un sol : eau de gravité, eau capillaire et eau liée. Le schéma précise également les notions de : capacité au champ, eau inutilisable et réserve utile. Les numéros sur le schéma correspondent à 1. le point de saturation, 2. le point de ressuyage, 3. le point de flétrissement temporaire, 4. le point de flétrissement permanent et 5. la teneur en eau hygroscopique.

Certains auteurs proposent un moyen de calculer la teneur en eau volumique minimale dans un substrat avant d'atteindre le point de flétrissement permanent (θ_{PWP}) de celui-ci (Guittonny et al., 2016). Pour déterminer par le calcul cette teneur en eau volumique, la pression de succion utilisée communément est de -1500 kPa (Cassel & Nielsen, 1986). Cette pression correspond à celle définie de manière générale comme pression maximale approximative que peut exercer une plante avant d'atteindre le point de flétrissement permanent. La valeur se base sur celle d'une plante référence, l'*Heliantus annuus* (Cassel

& Nielsen, 1986). Pour les raisons citées dans le paragraphe précédent, l'utilisation de cette valeur a régulièrement été critiquée, mais son usage est encore commun. Il faut cependant savoir qu'en réalité la valeur de Ψ oscille dans une gamme entre -10 et -3000 kPa, selon les espèces étudiées (Cassel & Nielsen, 1986). En l'absence de valeurs précises de Ψ correspondant au point de flétrissement temporaire d'une espèce dans l'étude de l'acquisition de l'eau par celle-ci de manière *in situ*, il est donc pertinent de sélectionner plusieurs gammes de valeurs de Ψ . La méthodologie pour obtenir les valeurs de teneur de rétention en eau des sols correspondant aux gammes de valeurs de Ψ est décrite en ANNEXE B.

2.3.4.2.2 Température du sol

La température joue un rôle important sur les mécanismes impliqués dans la pédogénèse, comme l'altération physico-chimique de la roche mère ou la dynamique de la matière organique dans le sol (Duchaufour et al., 2018). La température du sol peut par exemple jouer un rôle dans la prolifération de bactéries sur des résidus (Elberling et al., 2000). Certaines bactéries participent par leur activité biologique à l'oxydation de la pyrite et peuvent accélérer le drainage minier acide (Elberling et al., 2000).

Le gel peut aussi altérer la structure du sol, participant à l'agrégation (Duchaufour et al., 2018). L'alternance gel-dégel peut par exemple participer à l'éclatement des horizons de surface et engendrer un brassage du profil pédologique du sol (Duchaufour et al., 2018).

L'eau gelée est indisponible pour les plantes (Duchaufour et al., 2018). Physiquement, son état solide ne permet plus de circuler par pression de turgescence. Dans ce cas, le gel de la solution du sol provoqué par les températures basses du sol peut entraîner un effet similaire à un fort dessèchement du sol (Duchaufour et al., 2018; Lambers et al., 2008). Pour les plantes, cela correspond à l'atteinte du point de flétrissement permanent. Les résidus présentent particulièrement ces contraintes (Wong, 2003).

Enfin, les températures élevées peuvent nuire au développement des plantules. Cela peut notamment engendrer des différences de croissance entre les parties aériennes ou racinaires. Chez les plantules du genre *Picea*, la croissance du diamètre des individus réduit au-delà de 21°C dans le sol (Lahti et al., 2005). Pour le genre *Pinus* la température du sol optimale pour sa croissance se situe aux alentours entre 13 et 17°C (Domisch et al., 2001).

Une température plus importante peut aussi déclencher une levée de dormance précoce des graines, pouvant entraîner une diminution de la survie des individus germés si la température diminue plus tard dans la saison (Milbau et al., 2009).

2.3.4.2.3 Microsites

Les microsites sont des sites à petite échelle au sein d'un habitat plus large qui présentent des conditions différentes du reste du milieu. Le microrelief est bien souvent une des caractéristiques pouvant influencer les conditions spécifiques d'un microsite (teneur en eau volumique, température, entre autres) (Bussière & Guittonny, 2020). Les microsites peuvent avoir un effet sur la germination et la survie des plantules. Dans la littérature récente, le rôle des microsites dans la capture des graines et le recrutement des jeunes plants est un sujet d'intérêt pour la compréhension de la dynamique des populations végétales et des efforts de végétalisation (Eriksson & Ehrlén, 1992). Dans le cas de la succession primaire, étant donné l'absence de banque de graine, la création de microsites peut participer à la capture des graines sur le site et faciliter l'établissement de certaines espèces (Bullied et al., 2012; Eriksson & Ehrlén, 1992). La masse et la taille des graines ont un impact sur la dispersion des espèces d'arbres pionnières (Dalling & Hubbell, 2002). L'hétérogénéité du microrelief permet de capturer des graines de différentes tailles et masses, augmentant ainsi les chances d'établir une communauté d'arbres diverse (Dalling & Hubbell, 2002; Winn, 1985). La scarification des sols en contexte de restauration écologique aide à créer des microsites favorables à la colonisation naturelle des espèces végétales (Prévost, 1997). La scarification combinée au paillage des microsites créés améliore la croissance des épinettes noires (Mallik & Kravchenko, 2016). La scarification participe aussi à la décompaction des sols, favorisant l'enracinement des plantes (Bussière & Guittonny, 2020).

2.3.4.3 Conditions chimiques

2.3.4.3.1 Disponibilité en nutriments et acquisition

En contexte de succession primaire, la biodisponibilité des nutriments est un enjeu majeur pour l'établissement des plantes. Le faible héritage biologique, le manque de matière organique et bien souvent la faible altération du matériel minéral rendent les nutriments

peu accessibles aux plantes (Walker & del Moral, 2011). La circulation rapide des nutriments dans la solution du sol, lorsque la granulométrie est grossière et la porosité est élevée, résulte d'un lessivage plus en profondeur des nutriments les rendant indisponibles en surface pour les plantes pionnières (Chapin et al., 1994; Del Moral & Wood, 1993; Lunt & Hedger, 2003). Le pH du sol a également un effet en permettant la dissolution des nutriments et en les rendant disponibles dans la solution du sol (Bullied et al., 2012; Cross & Lambers, 2017; Lal, 2020). La capacité des plantes à acquérir ces nutriments résulte de leur profil racinaire et de leur capacité à établir des relations écologiques avec des microorganismes leur conférant un avantage, que cela soit sous la forme de relation antagoniste, mutualiste ou commensale. (Bockstette et al., 2017; Boeraeve et al., 2019; Boldt-Burisch & Naeth, 2017; Clemmensen et al., 2013; Kolaříková et al., 2017; Zhang et al., 2019).

L'azote :

La photosynthèse implique de nombreuses molécules contenant de l'azote, notamment les enzymes essentielles comme la ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase (rubisco) qui joue un rôle crucial dans le cycle de Calvin pour la fixation du carbone (Lambers et al., 2008). Cette enzyme représente une part significative de l'azote foliaire (Makino, 2003). Les plantes absorbent l'azote sous forme de nitrate (NO_3^-) et d'ammonium (NH_4^+) puisque l'azote atmosphérique n'est pas directement accessible (Lambers et al., 2008). L'azote du sol provient de la fixation biologique par des bactéries comme *Rhizobium* en symbiose avec les légumineuses (Chapin III et al., 2011; Duchaufour, 2012; Duchaufour et al., 2018; Gobat et al., 2010; Lambers et al., 2008). C'est pour cette raison que ce sont souvent les légumineuses qui sont parmi les premières espèces végétales à coloniser une surface sans héritage biologique, comme c'est le cas lors de la succession primaire notamment sur sites miniers (Wong, 2003). La décomposition des tissus végétaux libère aussi de l'azote sous forme ammoniacale, qui peut être nitrifié en nitrate dans des conditions aérobies, un processus influencé par le pH du sol (Duchaufour et al., 2018). Le nitrate peut être perdu par lessivage ou dénitrifié en gaz diazote par des bactéries sous conditions anoxiques, comme le genre *Pseudomonas* (Carlson & Ingraham, 1983; Duchaufour et al., 2018; Zhang et al., 2011). Dans les contextes miniers, l'utilisation d'explosifs contenant du

nitrate d'ammonium peut involontairement fertiliser les sols, entraînant des risques d'eutrophisation des écosystèmes aquatiques (Hendry et al., 2018).

Le phosphore

Le phosphore, comme l'azote, est présent en grande quantité dans les cellules végétales, jouant un rôle clé dans la composition des molécules d'adénosine triphosphate (ATP) et de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP), qui sont des molécules essentielles pour les réactions métaboliques et le transport d'électrons (Lambers et al., 2008). Contrairement à l'azote, le phosphore se trouve principalement dans les minéraux du sol avant d'être assimilé par les plantes (Duchaufour et al., 2018). Sa mobilité dans le sol est faible en raison de sa tendance à se lier avec des éléments comme l'aluminium ou le fer, ce qui limite le lessivage (Duchaufour et al., 2018). Les plantes dépendent souvent de leurs systèmes racinaires étendus et de symbioses mycorhiziennes pour l'acquisition du phosphore (Lambers et al., 2008).

Autres nutriments

Outre l'azote et le phosphore, les plantes nécessitent divers autres éléments pour leur métabolisme et la synthèse de protéines. Chaque élément suit un cycle biogéochimique spécifique. La nutrition minérale des plantes dépend du stade de pédogenèse et du type de sol. Parmi ces éléments figurent le soufre (S), le calcium (Ca^{2+}), le magnésium (Mg^{2+}) et le potassium (K^+). Le soufre est essentiel pour la production d'acides aminés sulfurés (Lambers et al., 2008) et se trouve principalement dans les composés organiques du sol (Duchaufour et al., 2018). Certaines plantes pionnières, comme les brassicacées (moutarde noire) et les fabacées (trèfle, mélilot), exigent des concentrations élevées de soufre (Lambers et al., 2008). Le soufre est assimilé par les plantes sous forme de sulfate (SO_4^{2-}) (Duchaufour et al., 2018). Sur les sites miniers, le soufre est souvent présent sous forme de sulfure de fer (pyrite), qui, en s'oxydant, peut provoquer un drainage minier acide (DMA) (Bussière & Guittonny, 2020). Une étude menée par des chercheurs canadiens, chinois et sud-coréens a examiné l'impact des dépôts de soufre dus à l'exploitation des sables bitumineux sur la communauté microbienne d'une forêt boréale canadienne, trouvant que des concentrations élevées de soufre ($30 \text{ kg S} \cdot \text{ha}^{-1}$, sous la forme NaSO_4) inhibent l'activité enzymatique sans altérer la composition microbienne spécifique (Hu et al., 2013).

L'apport en calcium (Ca^{2+}) varie selon les espèces végétales et il a une influence sur le pH du sol, tendant à l'élever, favorisant ainsi la nutrition des plantes (Duchaufour et al., 2018). Le calcium et le rapport Ca:Al peuvent affecter la composition et la diversité végétale en forêt boréale. Une étude finlandaise a montré que la concentration en calcium influençait significativement la composition spécifique du sous-bois et augmentait le pH des sols (Närhi et al., 2011).

Enfin, le magnésium (Mg) et le potassium (K) sont également essentiels à la vie des plantes, étant des composants de nombreux cofacteurs d'enzymes et de la chlorophylle, indispensable à la photosynthèse (Lambers et al., 2008). Après un feu de forêt en région boréale, la concentration de magnésium dans le sol augmente (Maynard et al., 2014). La plus haute concentration de potassium se trouve dans les sols minéraux de la forêt boréale canadienne (Maynard et al., 2014).

La Table 2.5 présente un ensemble de valeurs que l'on peut trouver dans la littérature scientifique récente portant, entre autres, sur la végétalisation des rejets miniers. Il permet de porter un regard sur les gammes et valeurs moyennes que l'on trouve à divers endroits du monde, mais particulièrement au Québec pour faciliter la comparaison avec le contexte boréal témiscabitién.

Table 2.5 Valeurs moyennes ou gamme de valeurs des éléments du sol disponible pour la nutrition minérale des plantes, obtenues lors d'études réalisées essentiellement au Canada.

Valeur moyenne ou gamme de valeur	Localisation	Matériau	Nutriments	Références
1,7 mg/Kg	Saguenay, QC	résidus	NH ₄ ⁺	Faubert et al. 2017
3,4 mg/Kg	Saguenay, QC	résidus	NO ₃ ⁻	
3,7 mg/Kg	Saguenay, QC	résidus	P total	
43 mg/Kg	Saguenay, QC	résidus	K total	
4,3 mg/Kg	Saguenay, QC	résidus	Ca total	
0,1 g/Kg	Abitibi, QC	résidus	N total	Guitttonny et al. 2016
0,7 g/Kg	Abitibi, QC	résidus	P total	
8 mg/Kg	Abitibi, QC	résidus	P disponible	
9 g/Kg	Abitibi, QC	résidus	K total	
17 g/Kg	Abitibi, QC	résidus	Ca total	
0,4 g/Kg	Abitibi, QC	mort terrain	N total	
0,6 g/Kg	Abitibi, QC	mort terrain	P total	
5,1 mg/Kg	Abitibi, QC	mort terrain	P disponible	
2,7 g/Kg	Abitibi, QC	mort terrain	K total	
9 g/Kg	Abitibi, QC	mort terrain	Ca total	
4,3 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique	N total	
0,6 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique	P total	
3,6 mg/Kg	Abitibi, QC	horizon organique	P disponible	
3,6 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique	K total	
11 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique	Ca total	
0,1 g/Kg	Abitibi, QC	stériles	N total (dans matériau sec)	Taurines 2019
3,02 g/Kg	Abitibi, QC	stériles	K total (dans matériau sec)	
Non détect.	Abitibi, QC	stériles	P total (dans matériau sec)	
5 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique forestier non perturbé	N total (dans matériau sec)	
0,47 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique forestier non perturbé	K total (dans matériau sec)	
0,34 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique forestier non perturbé	P total (dans matériau sec)	

Table 2.5 (suite)

Valeur moyenne ou gamme de valeur	Localisation	Matériau	Nutriments	Références
10,7 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique forestier	N total (dans matériau sec)	
0,66 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique forestier	K total (dans matériau sec)	
0,84 g/Kg	Abitibi, QC	horizon organique forestier	P total (dans matériau sec)	
3,7 g/Kg	Abitibi, QC	Bois Raméal Fragmenté	N total (dans matériau sec)	
1,84 g/Kg	Abitibi, QC	Bois Raméal Fragmenté	K total (dans matériau sec)	
0,52 g/Kg	Abitibi, QC	Bois Raméal Fragmenté	P total (dans matériau sec)	
0,04 g/Kg	Abitibi, QC	résidus	N total (dans matériau sec)	Guittonny et al. 2016
0,68 g/Kg	Abitibi, QC	résidus	P total (dans matériau sec)	
7,7 g/Kg	Abitibi, QC	résidus	K total (dans matériau sec)	
14,4 g/Kg	Abitibi, QC	résidus	Ca total (dans matériau sec)	
0,5 g/Kg	Irlande	résidus	N total	Jordan et al. 2008

2.3.4.3.2 Contamination et éléments phytotoxiques

En 2000, Tordoff s'est appliqué à identifier les approches qui étaient alors contemporaines en matière de végétalisation des sites miniers (Tordoff et al., 2000). Concernant les propriétés chimiques des rejets limitant l'établissement des plantes, il indiquait que les deux effets principaux sur les plantes étaient la disponibilité en nutriments et la présence d'éléments phytotoxiques (Tordoff et al., 2000). À l'époque, Tordoff expliquait que le mécanisme par lequel les métaux lourds provoquent la phytotoxicité était encore peu connu, bien qu'une inhibition de la croissance racinaire fût observable (Tordoff et al., 2000). Ces considérations phytotoxiques ont été depuis mieux comprises. Cooke et Johnson en 2002 ont permis de synthétiser plusieurs concentrations en éléments phytotoxiques à prendre en compte dans la restauration écologique des sites miniers (Cooke & Johnson, 2002). Au début des années 1980 au Québec, la *politique de protection des sols*

et de la réhabilitation des terrains contaminés a vu le jour et a donné naissance à un guide d'intervention rassemblant l'information technico-légale de cette politique (Tardif-Drolet et al., 2020). Ce guide d'intervention comporte l'Annexe 2 qui comprend notamment les teneurs légalement acceptées des différents métaux et métalloïdes dans les rejets pour diverses utilisations du site après réhabilitation.

Une synthèse de littérature sur le sujet a été publiée en mars 2020, dans la revue *Chemosphere* (Xie & van Zy, 2020). Elle porte sur les connaissances actuelles concernant les processus géochimiques et leur relation avec la végétation sur résidus miniers sulfureux, les techniques de phytostabilisation et de phytoremédiation, les processus géochimiques au niveau de la rhizosphère (Xie & van Zy, 2020).

Les propriétés géochimiques des rejets miniers sont très variables selon la minéralogie du minerai extrait. Les rejets peuvent contenir des éléments toxiques et leur pH peut être très alcalin ou très acide (Coudert et al., 2020; Cross & Lambers, 2017; Cross et al., 2018; Scholl & Miyamoto, 1983). S'il y a en plus des minéraux sulfureux dans les rejets lors de leur dépôt, il peut survenir une oxydation de ces minéraux sulfureux liée à la présence d'eau (précipitations atmosphériques) et de dioxygène atmosphérique (Xie & van Zy, 2020). Cette réaction d'oxydation s'appelle le drainage minier acide (Aubertin et al., 2002). Ce phénomène peut être constaté dans la nature sans qu'il y eût intervention de l'être humain, on parle alors plutôt de drainage rocheux acide (Dold, 2017).

Arsenic :

Cette oxydation entraîne plusieurs problématiques environnementales, à commencer par une potentielle libération d'éléments traces métalliques ou métalloïdes comme l'arsenic (As) présent dans certains minéraux sulfureux de type arsénopyrite comme le mispickel (FeAsS) ou la gudmundite (FeSbS) (Amos et al., 2015). Ce type de problématique environnementale, bien que souvent en lien avec le stockage des résidus, peut également survenir avec les roches stériles entreposées sous l'effet de l'altération naturelle du matériel minéral parental (Amos et al., 2015; Kalonji, 2020). La présence d'arsenic dans les tissus des plantes peut s'accumuler jusqu'à des niveaux phytotoxiques (Lambers et al., 2008). Les plantes étant les organismes producteurs primaires de molécules carbonées, il se pourrait qu'il y ait ainsi une contamination du réseau trophique par transfert de ces éléments

lors de la consommation (broutage) puis de la production secondaire de matière organique, surtout dans le cas des plantes hyperaccumulatrices comme *Medicago sativa* (Chen et al., 2015; Farooq et al., 2016). La phytotoxicité se caractérise par des effets négatifs sur le métabolisme de la plante. Si l'on prend l'exemple de l'arsenic, il en existe deux formes pouvant intervenir dans le métabolisme des êtres vivants : l'arséniate (AsV) et l'arsénite (AsIII) (Finnegan & Chen, 2012). L'AsV peut agir sur le cycle Krebs des organismes aérobies lors de la phosphorylation de l'adénosine diphosphate (ADP) en adénosine triphosphate (Finnegan & Chen, 2012). L'AsV étant un analogue du phosphate, il peut donc rivaliser avec le phosphate lors de cette phosphorylation. L'AsV-ADP étant moins stable que l'ATP, les cellules ne peuvent plus réaliser un métabolisme normal (Finnegan & Chen, 2012). L'AsIII, quant à lui, peut inactiver des enzymes porteurs de l'acide- α -aminé cystéine (Finnegan & Chen, 2012).

Autres contaminants :

L'arsenic est un exemple parmi tant d'autres. On peut citer le cas de l'antimoine, du cadmium, du manganèse, du cuivre, du plomb, entre autres (Guittonny-Larchevêque & Lortie, 2017; Kaur et al., 2014; Lauder et al., 2017; Seregin & Ivanov, 2001; Wechtler et al., 2019). Dans la plante à des teneurs trop élevées, ils deviennent également phytotoxiques (Guittonny-Larchevêque & Lortie, 2017; Kaur et al., 2014; Seregin & Ivanov, 2001). Une synthèse de littérature publiée en 2018 présente un bon nombre de ces problématiques de phytotoxicité sur rejets miniers observées à travers le monde (Sun et al., 2018). Guittonny-Larchevêque & Lortie (2017) ont étudié l'impact du drainage minier acide (DMA) et l'accumulation d'éléments traces métalliques (ETM) dans les feuilles de saule sur des roches stériles. Ils ont comparé différents substrats, notamment avec ajout de matière organique. Les feuilles de saule présentaient des concentrations phytotoxiques en zinc (Zn) et cadmium (Cd), surtout avec ajout de matière organique, probablement dû à l'acidification du sol par la tourbe et la capacité de phytoextraction du saule.

Effet de la contamination sur la trajectoire successionale

Dans certains cas, lorsque la toxicité est trop élevée, la succession primaire implique une continuité dans le type de plantes qui vont se succéder, chaque espèce étant résistante à la toxicité du sol dans la sère suivante (Wang et al., 2008). Cela limite les possibilités de

restauration des sites et donne une direction à la trajectoire successione de l'écosystème bien différente de celle de l'écosystème original, pouvant parfois mener jusqu'à la réduction des services écologiques. C'est le cas en Chine du Sud où des résidus miniers abandonnés (mine de manganèse) ont fait l'objet d'une tentative restauratoire (Wang et al., 2008). Cependant, les quantités de manganèse total, de cadmium, de cuivre et de zinc – étant à des niveaux phytotoxiques trop élevés – n'ont permis qu'à des espèces de plantes métallotolérantes de s'établir et de se succéder (Wang et al., 2008).

Salinité de la solution du sol :

La salinisation se réfère à la présence de sels, principalement de sodium (Na), calcium (Ca), ou magnésium (Mg), dans la solution du sol (Duchaufour et al., 2018). La salinité peut être mesurée par la conductivité électrique d'une solution de sol extraite par centrifugation (Duchaufour et al., 2018). La salinité de la solution du sol affecte le potentiel osmotique de l'eau du sol, influençant la capacité des plantes à absorber l'eau et les nutriments (Hillel, 2003).

Zhang et al. (2020) ont trouvé un lien entre une conductivité électrique de 0.8 mS.cm⁻¹ dans un sol de résidus miniers et un taux de mortalité élevé chez les plantules de *Picea glauca*, et une inhibition de la croissance chez les genres *Alnus* et *Betula*, effets atténués par l'ajout de sol organique et de tourbe. Une étude en Alberta a montré que l'utilisation de sels de dégel augmentait la salinité des sols, réduisant la concentration de chlorophylle dans les feuilles d'arbres comme *Picea glauca* (Equiza et al., 2017). De plus, la salinité peut affecter la germination des plantes, y compris les halophytes, dont les graines ont un taux de germination plus faible dans des sols salins comparés à des sols neutres (Piovan et al., 2019).

La Table 2.6 présente quelques valeurs moyennes et gammes de valeurs de référence concernant la conductivité électrique dans les rejets miniers et de sols forestiers, principalement situés au Canada.

Table 2.6 Valeurs moyennes ou gamme de valeurs de conductivité électrique mesurée selon différents types de substrat (rejets miniers, sols forestiers, etc.) obtenues lors d'études réalisées principalement au Canada.

Valeur moyenne ou gamme de valeur	Matériau	Localisation	Références
0,27 mS/cm	Bois Raméal Fragmenté à pH 6,86 d'échantillons	Abitibi, QC	Taurines 2019
0,20 mS/cm	Stériles à pH 7,96, avec une analyse ICP-AES d'échantillons	Abitibi, QC	
0,21 mS/cm	Horizon organique forestier après coupe forestière à pH 4,51, avec une analyse ICP-AES d'échantillons	Abitibi, QC	
0,19 mS/cm	Horizon organique forestier non perturbé à pH 4,74, avec une analyse ICP-AES d'échantillons	Abitibi, QC	
4-5 mS/cm	Lixiviat de résidus à pH 5	Manitoba, Canada, mine d'or Manitoba Central	Tycholiz et al. 2016
6-18 mS/cm	Lixiviat de résidus à pH inférieur à 3,5	Manitoba, Canada, mine d'or Manitoba Central	
1,1 mS/cm	Solution de 60mL à partir d'échantillon de 30g d'horizon organique forestier, pH à 5,9	Fort McMurray, Alberta, Canada	Zhang et al. 2020
0,8 mS/cm	Solution de 60 mL à partir d'échantillon de 30g de résidus, pH à 8,8	Alberta, Canada, sable bitumineux	
0,22 mS/cm	Stériles, échantillons totaux de 3 types de stériles miniers, moyenne des lixiviats en sortie de colonnes, en laboratoire, à pH 7-8	Abitibi, QC	Elghali et al. 2019
1 mS/cm	Stériles, échantillons de la fraction fine (<2,4 mm) de 3 types de stériles miniers, moyenne des lixiviats en sortie de colonnes, en laboratoire, à pH 7-8	Abitibi, QC	
0,06 mS/cm	Stériles, échantillons de la fraction grossière (>2,4 mm) de 3 types de stériles miniers, moyenne des lixiviats en sortie de colonnes, en laboratoire, à pH 7-8	Abitibi, QC	
0,22-1,71 mS/cm	Résidus, lixiviats de mini-cellules de résidus in situ, pour un pH de 6,77-8,91	Baie James, QC	Rakotonimaro et al. 2019

Table 2.6 (suite)

Valeur moyenne ou gamme de valeur	Matériau	Localisation	Références
1 mS/cm	Stériles, sondes GS3 mesurant in situ la conductivité électrique de l'eau circulant dans la halde, en surface de la halde (<5 m), après un événement d'infiltration	Côte Nord, Québec	Dimech et al. 2018
10 mS/cm	Stériles à pH 7,9	Abitibi, QC	Guillon et al. 2016
1 mS/cm	Horizon organique à pH 5,1	Abitibi, QC	
2,34 mS/cm	Résidus à pH 7,77	Irlande	Jordan et al. 2008

2.3.4.4 Microorganismes du sol

L'activité microbienne contribue à la minéralisation et à l'immobilisation de certains éléments, les rendant biodisponibles pour les plantes (Parker et al., 1987). Certains microorganismes participent également à la fixation d'éléments atmosphériques comme l'azote (Carlsson & Huss-Danell, 2003; Ingram et al., 2007; Zahran Hamdi, 1999). Les microorganismes du sol jouent un rôle crucial dans les cycles géochimiques et la disponibilité des nutriments pour les plantes (Ingram et al., 2007; Van Der Heijden et al., 2008). Il est donc utile de s'intéresser à leur colonisation du substrat après une perturbation et d'étudier le développement des communautés microbiennes en concomitance avec le développement des communautés végétales, dans le contexte de succession primaire (Jiang et al., 2021; Li et al., 2023).

Des recherches ont démontré que, dans la succession écologique (primaire ou secondaire) des écosystèmes, il existe une succession des microorganismes (« microsuccession »), notamment avec les champignons mycorhiziens associés à la rhizosphère des plantes (Gray & Kernaghan, 2020; Kałucka & Jagodziński, 2017; Krüger et al., 2017; Last et al., 1987). À titre d'exemple, les champignons mycorhiziens des genres *Hebeloma* et *Laccaria* s'établissent en début de succession près des plantules du genre *Betula*, tandis que les genres *Lactarius*, *Leccinum* et *Russula* apparaissent près des arbres plus matures (Last et al., 1984). La succession mycorhizienne suit la succession végétale, indiquant une spécificité croissante des relations entre les partenaires mycorhiziens (Last et al., 1987). Ce

phénomène s'explique par le principe d'exclusion compétitive de Volterra-Gause (Gause, 1934), qui détermine que les espèces les plus efficaces dans l'acquisition des ressources limitantes subsistent mieux et finissent par éliminer les moins efficaces. La diversité spécifique des champignons mycorhiziens augmente dans les premières étapes de la succession, atteint un pic en milieu de succession avec la cohabitation d'espèces « hôte-spécifiques » et « hôte-généralistes », et diminue en fin de succession au profit des espèces « hôte-spécifiques » (Last et al., 1987).

La composition des communautés bactériennes de la rhizosphère est influencée par les propriétés du sol et les mécanismes physiologiques des plantes, avec des variations importantes en fonction du compartiment étudié (endosphère ou rhizosphère) (Rheault et al., 2020). Cependant, la littérature scientifique présente encore des lacunes dans la compréhension des mécanismes écologiques régulant ces communautés en contexte de succession primaire, notamment sur les rejets miniers et les roches stériles.

Les méthodes récentes d'analyse des microbiotes permettent de faire des recherches efficaces sur le développement de ces communautés assez rapidement et à moindre coût, notamment depuis le développement des approches de métagénomiques de type « metabarcoding ». Ces approches permettent de ne séquencer qu'une partie courte du génome des microorganismes présents dans un échantillon (sous-unités ribosomiques 16S pour les bactéries et ITS pour les fongiques) (Streit & Daniel, 2017). Les nouvelles méthodes d'analyses bio-informatiques ont aussi permis l'accélération des découvertes dans le domaine de la métagénomique, notamment grâce à des logiciels comme QIIME2, offrant des fonctions performantes pour le nettoyage et le traitement des données métagénomiques (Caporaso et al., 2010). Ces nouvelles techniques ont permis de faire des avancées considérables dans le domaine de l'identification et de la quantification des communautés de microorganismes, notamment dans le cas du microbiote rhizosphérique (Stefani et al., 2018).

2.4 Cadre appliqué

2.4.1 Approches de végétalisation des roches stériles

La littérature scientifique sur la végétalisation des roches stériles reste encore très sporadique. Dans la base de données OpenAlex (Priem et al., 2022), sur les 851 articles

traitant spécifiquement de la végétalisation des rejets miniers, seuls 65 ne portent strictement que sur les roches stériles et 773 portent strictement sur les résidus miniers. Un peu plus de 90% de la littérature scientifique s'intéressant à la végétalisation des rejets miniers portent strictement sur les résidus. Bien que l'empreinte environnementale des aires d'entreposage des roches stériles soit relativement inférieure à celle des parcs à résidus (Allan, 1995; Paktunc, 1999; Tongway & Ludwig, 2011a), il est important de souligner le manque de connaissances techniques concernant les approches de végétalisation des roches stériles dans le monde.

2.4.1.1 Amélioration de substrat

L'amélioration de substrat en vue d'une mise en végétation est une approche très commune lors de la réhabilitation d'un site minier (Macdonald et al., 2015). Diverses approches ont été proposées dans la littérature scientifique contemporaine pour améliorer les propriétés des roches stériles et rendre les conditions favorables à l'établissement des plantes (Bussière & Guittonny, 2020). Le choix de l'approche de végétalisation (ensemencement, plantation ou colonisation naturelle) orientera en partie le type d'amélioration de substrat choisie.

2.4.1.1.1 Amélioration physique

L'amélioration physique du substrat a souvent pour objectif d'améliorer les propriétés de texture, de structure et de rétention en eau du sol. C'est un défi important concernant les roches stériles, car la granulométrie de ce matériau est variable (distribution granulométrique souvent étalée et pas toujours gaussienne) et sa disposition dans les aires d'entreposage peut entraîner une porosité irrégulière, pouvant faciliter le drainage de l'eau en profondeur dans le sol. Il est souvent envisagé de réutiliser le mort terrain pour améliorer les propriétés du substrat. Mais à l'issue des travaux d'exploitation, celui-ci est bien souvent non disponible.

L'utilisation de terre végétale comme apport de matière organique de surface a été largement documentée dans la littérature (Macdonald et al., 2015). Ce type d'apport permet la formation d'agrégats avec la fraction la plus fine des roches stériles (Gurung et al., 1996). Cette amélioration structurale peut augmenter la porosité du substrat et permettre à la

capacité de rétention en eau du sol d'augmenter. Dans les climats arides et semi-arides, où les événements pluvieux sont plus rares, ce type d'approche est particulièrement souhaitable, car elle permet la recharge efficace de la capacité au champ du sol avant que l'eau ne soit rapidement drainée ou évaporée (Golos et al., 2021; Nsiah & Schaaf, 2019). Certains auteurs suggèrent l'inclusion de roches stériles en surface après étalement de la terre végétale pour créer de la rugosité en surface et ainsi réduire le ruissellement de surface et offrir des microsites favorables à l'établissement de la végétation (Golos et al., 2019). L'émergence de plantules peut être jusqu'à 3 fois plus importante avec cette approche que sans terre végétale (Golos et al., 2021). Dans un projet de recherche en Nouvelle-Zélande, l'apport d'un horizon A du sol en surface des roches stériles a également montré un effet positif en matière de croissance en hauteur et de survie de hêtres plantés (Norton et al., 2013).

Il est aussi crucial de réduire les risques d'érosion des substrats composés de roches stériles, notamment dans les pentes. La plantation d'arbres est moins efficace que l'établissement d'herbacées sur les roches stériles pour réduire l'érosion de sol (Remaury et al., 2019). Il est possible d'opter pour l'hydroensemencement ou laisser en colonisation naturelle le substrat. L'hydroensemencement permet d'obtenir une rapide colonisation racinaire du substrat (densité de longueur racinaire plus importante) par les herbacées, mais induit aussi une plus faible diversité spécifique que dans le cas de la colonisation naturelle (Remaury et al., 2019). Si la plantation d'arbres à croissance rapide (tel que les saules, peupliers hybrides) peut être envisagée, il est dans ce cas préférable d'opter pour un espacement assez large des arbres en vue de permettre aux herbacées de s'établir pour réduire l'érosion de sol (Remaury et al., 2019) et d'augmenter les chances d'ancrages des arbres dans le substrat (Babi et al., 2023).

2.4.1.1.2 Amélioration chimique du substrat

Il est parfois nécessaire d'améliorer les propriétés chimiques des roches stériles en vue d'augmenter les chances d'établissement des plantes sur le substrat (Bradshaw, 1997; Bradshaw, 1992). La plupart du temps, un amendement organique sous la forme d'un paillis ou de terre végétale permet l'augmentation de la concentration en nutriment du substrat (Cooke & Johnson, 2002). Lorsque disponibles, les biosolides et les composts

peuvent être de bons traitements de fertilisation pour les roches stériles et favoriser la croissance des mélanges d'herbacées sur ces substrats (McGeehan, 2009). Le facteur limitant amélioré dans le substrat est souvent la concentration en azote disponible (McGeehan, 2009). Cependant, des apports excessifs en azote disponible pour les plantes permettent souvent le développement d'une communauté végétale dominée par les poacées (McGeehan, 2009). Bien que l'on puisse apprécier une plus grande biomasse avec la fertilisation azotée, la diversité spécifique des herbacées est moins importante lorsqu'il n'y a pas de fertilisant (McGeehan, 2009). Les boues d'épuration peuvent être par exemple un intrant supplémentaire, lorsque disponibles, pour enrichir le sol en azote (Guéablé et al., 2021).

Cependant, il arrive que le simple apport d'amendement organique ne soit pas suffisant pour l'augmentation de la concentration en nutriment (Cooke & Johnson, 2002). La présence de certains sous-produits de l'industrie minière peut aussi permettre d'enrichir les aires de stockage des roches stériles. Par exemple, le phosphogypse provenant des mines de phosphate est un sous-produit sans grande valeur économique permettant un enrichissement du substrat de roches stériles pour faciliter l'établissement des herbacées lors des travaux de végétalisation (Guéablé et al., 2021). Certains auteurs ont également envisagé les produits de fertilisation commerciaux comme intrant pour l'amélioration des conditions chimiques des roches stériles, en l'absence de terre végétale disponible (Miekle et al., 1999). Mais les coûts de ce type d'approche sont très élevés et les résultats en matière de végétalisation sont nuancés (Miekle et al., 1999). De plus, avec la fertilisation des roches stériles, les plantes sont souvent plus hautes, mais le nombre d'individus est souvent plus important lorsqu'un apport de matière organique comme de la litière est utilisé (Parry et al., 2022). Selon les auteurs, le déficit en nutriment explique la faible croissance des plants (Parry et al., 2022). Mais en contexte *in situ* l'apport de litière vient aussi améliorer la texture du substrat, augmentant la rétention en eau en surface et facilitant l'acquisition de l'eau par les plantes (Parry et al., 2022).

2.4.1.1.3 Amélioration biologique du substrat

Plusieurs stratégies pour stimuler la mise en végétation des roches stériles peuvent être envisagées par l'intermédiaire du recrutement d'autres organismes.

C'est le cas par exemple du recrutement des microorganismes (Ossanna et al., 2023). On peut notamment parler du recrutement des champignons mycorhiziens arbusculaires ou des bactéries fixatrices d'azote dans la rhizosphère facilitant l'acquisition des nutriments par les plantes (Atunnisa & Ezawa, 2019; Boldt-Burisch & Naeth, 2017; Li et al., 2023; Wu et al., 2020). Des auteurs ont démontré que l'hydroensemencement pouvait accroître le recrutement de microorganismes fixant l'azote (Ossanna et al., 2023). Il est aussi possible de procéder à une inoculation directe des plantules avec des champignons AM du genre *Rhizophagus* spp. ou *Mesorhizobium* spp., facilitant ainsi la croissance des plantules de fabacées du genre *Senegalia* (avec cependant des résultats variables selon les espèces de champignons) (Buck et al., 2019; Yonli et al., 2022). Cependant, il a été démontré que, bien que le fumier puisse augmenter la quantité de nutriments disponibles dans le substrat, l'inoculation n'était avec des champignons AM n'était pas aussi efficace pour la croissance des plantes lorsqu'elle était combinée à un apport de fumier (Yonli et al., 2022).

2.4.1.2 Méthodes de végétalisation

L'ensemencement et l'hydroensemencement sont bien entendu des approches très communes pour augmenter les chances de recrutement d'espèces végétales sur les roches stériles (Babi et al., 2023; Bouchard et al., 2018; Remaury et al., 2019). Ces approches sont souvent combinées à une amélioration du substrat par l'ajout d'amendement organique (Guéablé et al., 2021), d'apport de terre végétale (Golos et al., 2019; Nsiah & Schaaf, 2019), de litière (Parry et al., 2022) ou encore parfois une fertilisation (McGeehan, 2009).

La colonisation naturelle par succession spontanée sur roches stériles est une approche peu coûteuse pouvant être envisagée lorsque la végétation adjacente au site le permet, est suffisamment mature et permet une dissémination de la végétation (Prach & Hobbs, 2008). Ce type d'approche peut requérir un contrôle de la végétation par le praticien, afin d'éviter l'établissement d'espèce exotique envahissante (Prach et al., 2001). Selon le niveau de perturbation et les conditions du substrat, il est aussi possible de ne voir avec cette approche que le développement d'espèces extrémophiles dominantes, ce qui peut ralentir voire bloquer le processus de succession (Prach & Walker, 2020). En suivant les règles de Keddy, il est possible d'envisager également la zonation géoécologique des aires de stockages de roches stériles selon les conditions géochimiques à divers endroits de ces aires

et en sélectionnant les espèces les plus appropriées pour chaque micro-habitat (Craw & Rufaut, 2021). Des chercheurs néozélandais ont notamment montré que des zones présentant une forte salinité pouvaient être colonisées par des plantes halophytes capables de tolérer de hauts niveaux de NaCl, tandis que les substrats acides pouvaient favoriser l'établissement d'espèces acidophiles (Craw & Rufaut, 2021). En identifiant et en encourageant la colonisation par des plantes adaptées aux différents gradients de pH et de salinité, on pourrait non seulement restaurer la couverture végétale, mais aussi promouvoir une plus grande biodiversité et résilience des écosystèmes réhabilités (Craw & Rufaut, 2021). Cette approche permettrait de tirer parti des variations géochimiques naturelles des sites miniers pour créer des zones écologiques diversifiées et fonctionnelles (Craw & Rufaut, 2021). Cependant, il est important de comprendre que ce type d'approche orienterait la succession vers un écosystème différent de celui originalement présent sur le site (Hobbs et al., 2009).

La plantation directe est une approche habituellement plus coûteuse à large échelle, mais envisageable, notamment pour créer des îlots de diversité à plusieurs points sur une aire de stockage des roches stériles étendue (Bussière & Guittonny, 2020; Walker & del Moral, 2009a; Young et al., 2022). Il est possible de planter des espèces à croissance rapide pour accroître les chances de succès de la plantation et faciliter l'établissement des autres espèces par la suite (Bouchard et al., 2018; Guittonny-Larchevêque & Lortie, 2017). Les chances de succès de la plantation dépendent entre autres de la qualité du substrat (avec ou sans amélioration) et de la capacité d'adaptation des espèces végétales (Bussière & Guittonny, 2020). L'écoulement en profondeur de l'eau dans les roches stériles peut entraver l'établissement des individus plantés. La plantation offre aussi la possibilité d'opter pour une inoculation microbienne de la plantule pour faciliter l'acquisition des nutriments dans les roches stériles (Reddell & Milnes, 1992; Yonli et al., 2022).

2.4.1.3 Facteurs et propriétés du substrat pouvant entraver la végétalisation sur roches stériles

La Table 2.7 présente une revue non exhaustive des principaux facteurs et des principales propriétés du substrat pouvant entraver la végétalisation des roches stériles.

Table 2.7 Revue non exhaustive des principaux facteurs et propriétés du substrat pouvant entraver la végétalisation des roches stériles.

Facteur	Description	Références
Compétition végétale	La concurrence entre les plantes, notamment entre les arbres plantés et les plantes herbacées, peut limiter la croissance et la survie des arbres. L'espacement entre les arbres plantés peut affecter ce facteur	Babi et al (2023), Nsiah et al (2019), Bouchard et al (2018), Remaury et al. (2018)
Disponibilité en eau	Les conditions de stress hydrique, influencées par les précipitations et la capacité de rétention en eau du sol, limitent l'établissement des plantes.	Parry et al (2022), Golos et al (2021), Taurines (2019), Remaury et al (2018)
Propriétés chimiques des roches stériles	La salinité, le pH du sol et la présence de contaminants peuvent affecter négativement la croissance des plantes. La présence de métaux lourds et de radioéléments dans les sols miniers peut limiter la croissance des plantes et nécessiter des stratégies de phytostabilisation.	Canhman et al (2020), Borden et al (2005) Callender et al (2016), Thiry et al (2008)
Déficit en nutriments	Les carences en nutriments essentiels comme l'azote et le phosphore dans les roches stériles peuvent entraver la croissance des plantes.	McGeehan et al (2009), Reddell et al (1992)
Température et microclimat	Les conditions de température et le microclimat peuvent affecter l'émergence des semis et la croissance des plantes.	Parry et al (2022), Golos et al (2019)
Érosion et pentes dans les haldes à stériles	Les pentes abruptes et l'absence de couverture végétale augmentent le risque d'érosion, entravant la stabilité du sol et la végétalisation.	Bouchard et al (2018) Williams (2001)
Texture et structure du substrat	La texture du substrat influence la réussite de la végétalisation. La compaction peut limiter l'enracinement des plantes et leur accès aux nutriments et à l'eau.	Golos et al (2019), Woch et al (2013), Borden et al (2005)
Sélection des espèces végétales	L'adéquation des espèces végétales aux conditions spécifiques du site minier (p. ex., tolérance aux contaminants) est cruciale pour le succès de la végétalisation.	Craw et al (2021), Canham et al (2020), Karthikeyan et al (2012)
Méthodes de stockage de la terre végétale	Le stockage prolongé de la terre végétale (durant les activités d'exploitation minière) peut altérer ses propriétés, nécessitant des amendements organiques pour restaurer sa fertilité.	Nsiah et al (2019)

2.4.2 Bois Raméal Fragmenté (BRF)

Le bois raméal fragmenté (BRF) est constitué de rameaux, de branches et de brindilles d'arbres et d'arbustes, généralement à feuilles caduques, d'un diamètre généralement inférieur à 7-8 cm (Barthes et al., 2015). Il est utilisé comme amendement pour améliorer les propriétés du sol et favoriser la croissance des plantes (Taurines, 2019). Assez peu de productions scientifiques publiées dans des revues à comité de lecture portent sur le sujet (Lemieux et al., 2000; Taurines, 2019). Il fait l'objet d'une large commercialisation à des fins d'horticulture, mais l'étude de ses effets sur l'amélioration des propriétés du substrat est assez restreinte, se résumant à quelques articles et principalement des rapports techniques (Barthès et al., 2010; Barthes et al., 2015).

Les BRF ont une teneur plus élevée en lignines et en minéraux que le bois de tronc, avec un faible ratio C:N ce qui peut être bénéfique pour la disponibilité en nutriments dans le sol (Félix et al., 2018). Cependant, l'application initiale de BRF peut freiner la croissance des plantes en raison de l'immobilisation dans un premier temps de l'azote, mais des avantages pour la croissance et le développement des plantes sont observés par la suite à mesure que l'azote est progressivement libéré sous une forme biodisponible (Félix et al., 2018). La combinaison de BRF avec des engrais minéraux peut atténuer l'immobilisation initiale de l'azote et améliorer la croissance des plantes à court terme (Félix et al., 2018).

Les BRF améliorent la teneur en matière organique du sol, la capacité de rétention d'eau et réduisent la masse volumique apparente du sol, ce qui peut améliorer la structure du sol et donc faciliter l'établissement de la végétation à long terme (Soumare et al., 2004; Wolf et al., 2019). L'ajout de BRF au sol peut réduire le compactage, ce qui est bénéfique pour la croissance des plantes, notamment au niveau du système racinaire (Wolf et al., 2019). Avec le temps et sa décomposition, il contribue aussi à l'agrégation des sols, augmentant leur porosité totale (Lourdes Luna et al., 2018). Certains auteurs ont observé une augmentation de la teneur en eau volumique juste sous la surface du paillis (L. Luna et al., 2018). En revanche, la teneur en eau volumique peut parfois être aussi faible dans les horizons plus profonds, en étant immobilisée juste en dessous de la couche de paillis de BRF et favoriser un accroissement du profil racinaire des plantes plutôt horizontal (Jiménez et al., 2016).

Les BRF peuvent réduire la mobilité des éléments traces métalliques ou métalloïdes comme le molybdène, le zinc, le chrome et le cobalt dans les sols contaminés, ce qui peut les rendre utiles pour la phytoremédiation (Fortin Faubert et al., 2021; Hattab et al., 2015; Hattab et al., 2014). Il a été observé dans certains cas que la concentration en ces éléments dans les plantes pouvait être plus faible lorsque le substrat avait été paillé avec du BRF (Fortin Faubert et al., 2021).

Enfin, l'apport de BRF peut augmenter les populations fongiques, qui jouent un rôle dans la décomposition de la matière organique et le cycle des nutriments (Tremblay & Beauchamp, 1998). Selon certains auteurs, le BRF n'a parfois pas d'effet sur les populations de bactéries et d'actinomycètes, ce qui indique une influence sélective sur les communautés microbiennes du sol (Tremblay & Beauchamp, 1998).

2.4.3 Analyse bibliométrique

2.4.3.1 Fouille de texte

Pour explorer les sujets et thématiques les plus étudiés dans la littérature scientifique portant sur la végétalisation des substrats miniers avec amélioration de substrat, une analyse bibliométrique a été conduite. Elle comporte plusieurs limites, notamment le fait qu'elle ne repose que sur les articles référencés dans la base de données Scopus. Mais elle permet de voir de manière générale les tendances de recherches dans le domaine et les aspects encore peu éprouvés.

L'intégralité de la méthodologie de recherche de cette analyse bibliométrique est décrite en ANNEXE E. À partir d'une requête permettant de récupérer les contributions scientifiques ayant un lien avec la végétation, l'afforestation, la reforestation sur les sites miniers, notamment ceux qui ont subi des traitements de sol, des améliorations de substrat ou l'ajout de terre végétale, une base de données de 1321 contributions a été générée, puis nettoyée pour atteindre 409 articles scientifiques.

Une analyse de texte a permis la constitution d'un réseau de co-occurrences de mots, puisés dans les résumés des 409 articles scientifiques échelonnés de 1978 à 2023. La représentation graphique ne montre que les termes présentant au moins 50 co-occurrences (Figure 2.13). Il est observable qu'une quantité substantielle de co-occurrences se rapporte

aux termes « growth » et « tailings ». En effet, au moins une co-occurrence de ces deux termes est détectée dans 113 résumés d'articles scientifiques sur les 409 de la base de données. Par ailleurs, le terme « amendment » s'avère particulièrement prédominant dans plusieurs résumés d'articles, liés aux deux termes précités. Une co-occurrence avec le terme « tailings » est notée dans 129 résumés d'articles et avec le terme « growth » dans 126 résumés d'articles.

Words co-occurrences network in the abstracts of 409 papers

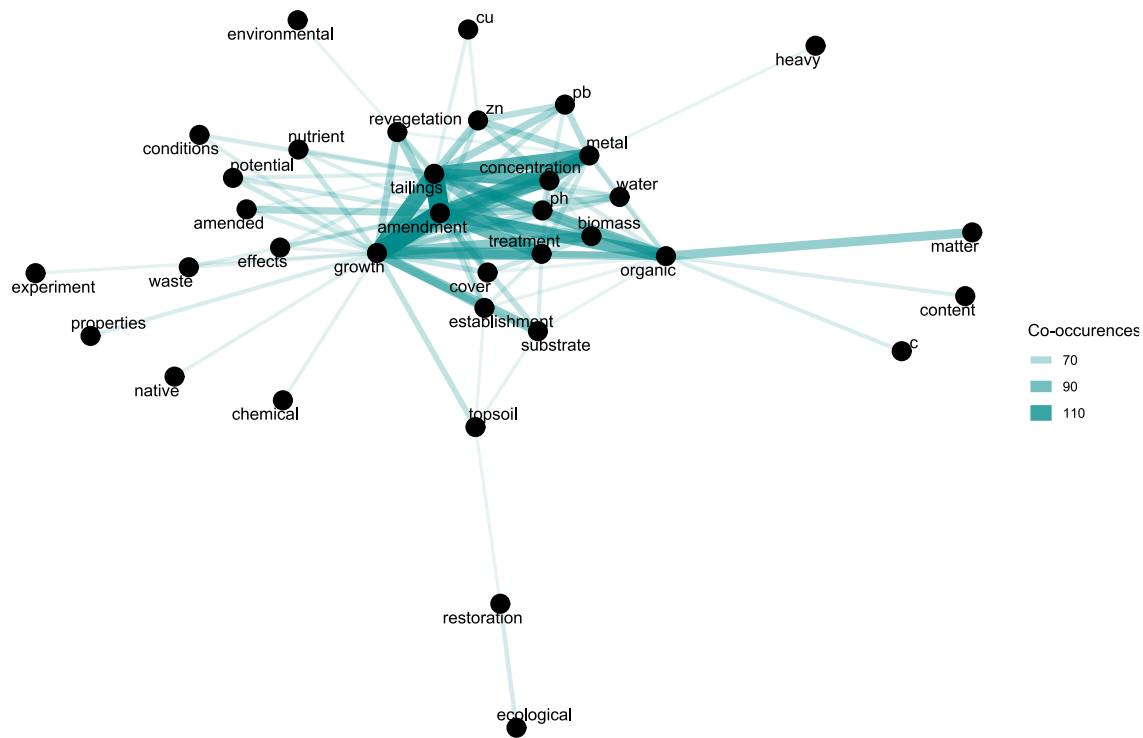


Figure 2.13 Réseau de co-occurrences de mots dans les résumés de 409 articles scientifiques portant sur l'amélioration de substrat dans la végétalisation des rejets miniers, dans la base de données Scopus.

Ceci suggère que l'étude de la croissance des végétaux sur des rejets miniers de type résidus, souvent avec l'ajout d'amendement comme traitement, a été étudié dans une proportion importante de la littérature portant sur le sujet (près d'un quart des articles scientifiques de la base de données). Le terme « waste », apparaissant de manière plus marginale que le terme « tailings » (« waste rock|waste rocks » apparaissant seulement dans 29 articles, tandis que « tailing|tailings » apparaissant dans 201 articles), révèle que

les rejets de type roches stériles ont été nettement moins étudiés que les résidus dans les articles portant sur la végétalisation des sites miniers. L'absence du terme « mulch » suggère que les publications traitant des traitements de substrat de type « paillis » sont notablement faibles.

Les sujets ayant suscité le plus d'intérêt tournent majoritairement autour de la réponse physiologique des plantes, en attestent les nombreuses co-occurrences des termes « growth » et « biomass ». Il est à noter l'absence des termes couramment associés au développement des communautés de plantes ou à leur développement à travers les processus de succession (le terme « community » est présent dans 75 articles, 29 fois en co-occurrence avec le terme « diversity », le terme « succession » est présent dans 35 articles).

Concernant les variables probablement les plus étudiées pour expliquer la réponse des plantes, un regroupement semble se dessiner autour des termes « metal » et « concentrations ». Ces termes partagent également de nombreuses co-occurrences avec les termes « Pb », « Zn », « Cu », « heavy » et « pH ». Cela laisse entendre que la contamination des substrats et l'effet de cette contamination sur la croissance des végétaux figurent parmi les sujets abondamment abordés autour du thème de la végétalisation des rejets miniers. Étant donné que les résidus constituent le type de rejets le plus étudié dans le cadre de la végétalisation des sites miniers, la contamination et les conditions chimiques des substrats sont probablement parmi les facteurs influençant le plus la croissance des végétaux sur ce type de rejet (Karaca et al., 2018).

Il est également notable que la présence de matière organique sur le substrat et l'eau dans les interactions sol-plante soient des sujets largement étudiés (Huttl & Weber, 2001; Proto & Courtney, 2023; Zanuzzi et al., 2009). De manière très marginale, le terme « native » apparaît, se référant probablement aux espèces indigènes souvent utilisées dans les travaux de restauration écologique (Anne Naeth & Wilkinson, 2014).

De manière générale, l'absence dans le graphique de la terminologie couramment associée aux conditions microclimatiques et aux conditions physiques du substrat, ainsi que les termes se rapportant aux communautés microbiennes pouvant interagir au niveau des racines des plantes, révèle que les recherches sur ces sujets, pouvant néanmoins influencer

le développement de la végétation sur les rejets miniers, sont encore insuffisamment représentées dans la littérature scientifique.

2.4.3.2 Publications à travers le monde et intérêt pour le domaine

La seconde analyse bibliométrique ayant porté sur la base de données OpenAlex (créée en 2022) a permis d'établir un portrait de l'intérêt croissant de la recherche sur l'amélioration de substrat pour la végétalisation des rejets miniers à travers le monde.

Le nombre de publications portant sur l'amélioration de substrat pour la végétalisation des substrats miniers est en constante augmentation, année après année. Pour apprécier l'augmentation du nombre de publications dans la discipline par rapport à l'augmentation normale du nombre de publications tous domaines confondus, un échantillon aléatoire de 10000 publications tous domaines confondus a été tiré dans la base de données OpenAlex. Ce nombre a ensuite été standardisé en le multipliant par le ratio du nombre de publications dans la discipline de l'amélioration de substrat pour la végétalisation des substrats miniers divisé par 10000. On peut voir que depuis 5 ans, la discipline a un accroissement plus rapide du nombre de publications que l'accroissement normal mondial du nombre de publications. Très récemment, la discipline a un accroissement du nombre de publication plus rapide que l'accroissement du nombre de publications en écologie générale. Cela démontre l'importance et l'intérêt croissant de cette discipline depuis le début des années 2020 (Figure 2.14).

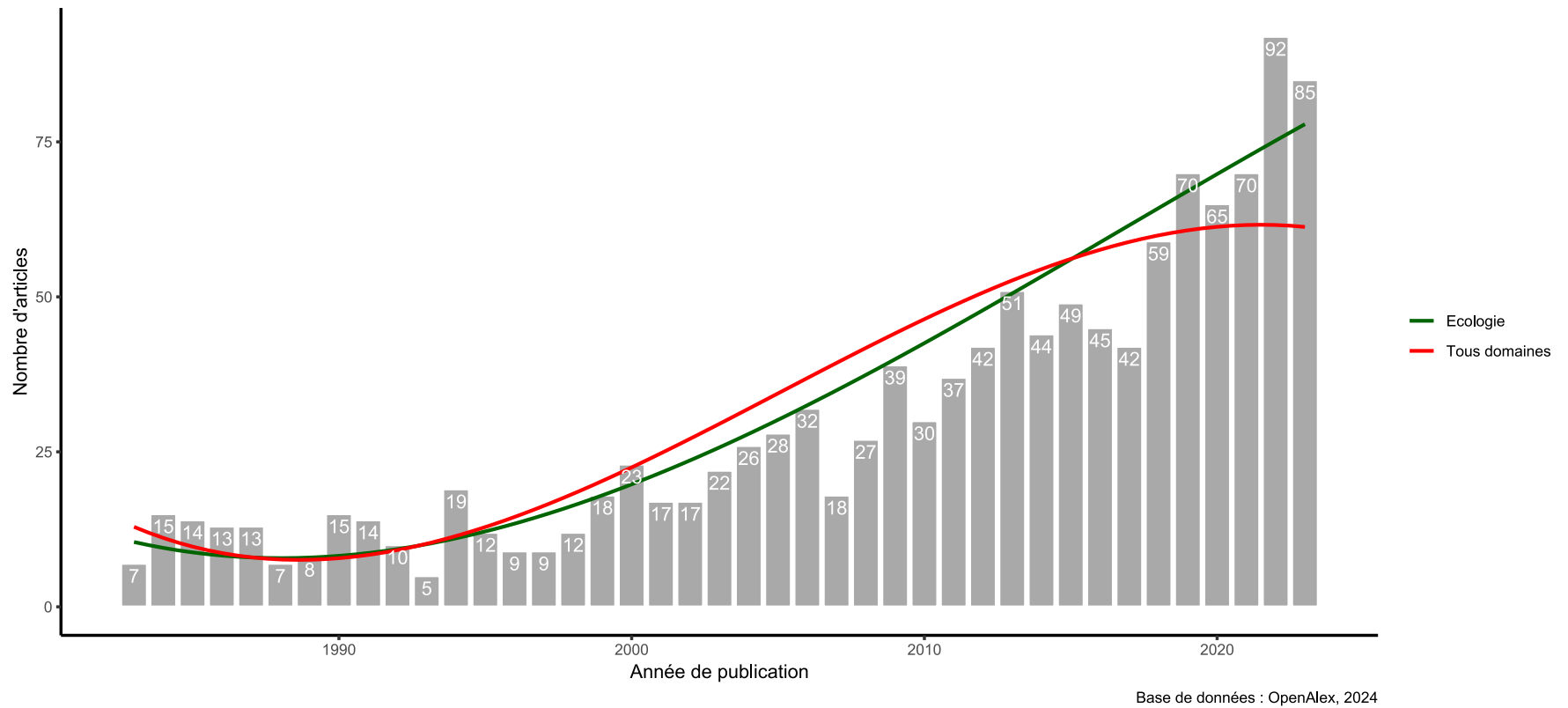


Figure 2.14 Augmentation du nombre de publications dans la discipline de l'amélioration de substrat pour la végétalisation des substrats miniers. En vert, l'augmentation normale standardisée du nombre de publication en Écologie et en rouge, tous domaines de recherche confondus dans le monde.

Un autre moyen d’apprécier cette tendance à l’accroissement rapide de la discipline est d’observer le ratio R du nombre de publications annuel n_Y dans la discipline divisé par le nombre de publications annuel standardisé N_{SY} des autres disciplines :

$$R = \frac{n_Y}{N_{SY}} - 1 \quad (2.3)$$

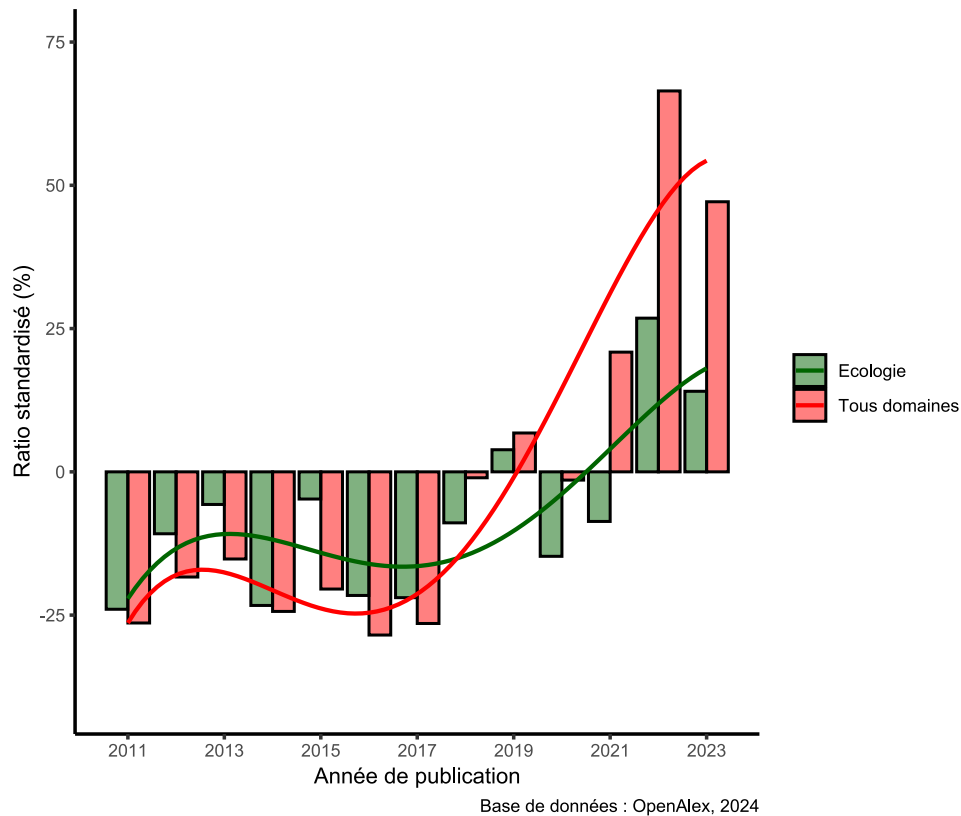
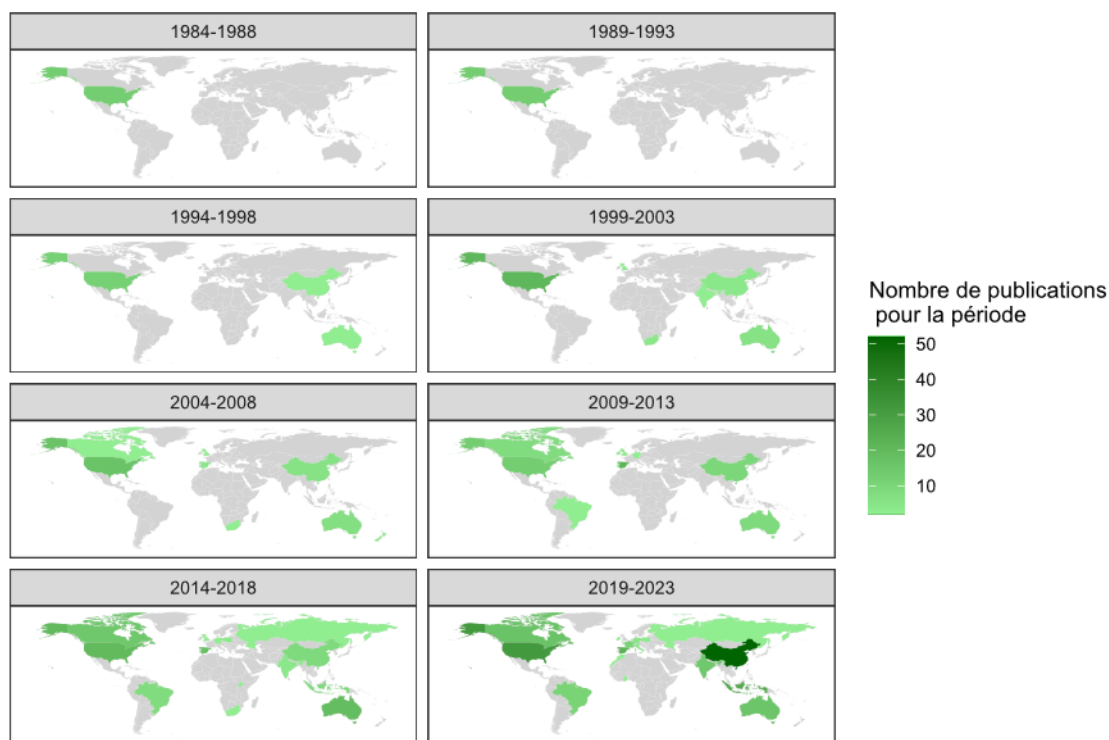


Figure 2.15 Ratio standardisé d’accroissement annuel du nombre de publications dans la discipline de l’amélioration de substrat pour la végétalisation des substrats selon le nombre standardisé de publications dans le domaine de l’écologie (en vert) et dans tous les domaines de recherche confondus (en rouge).

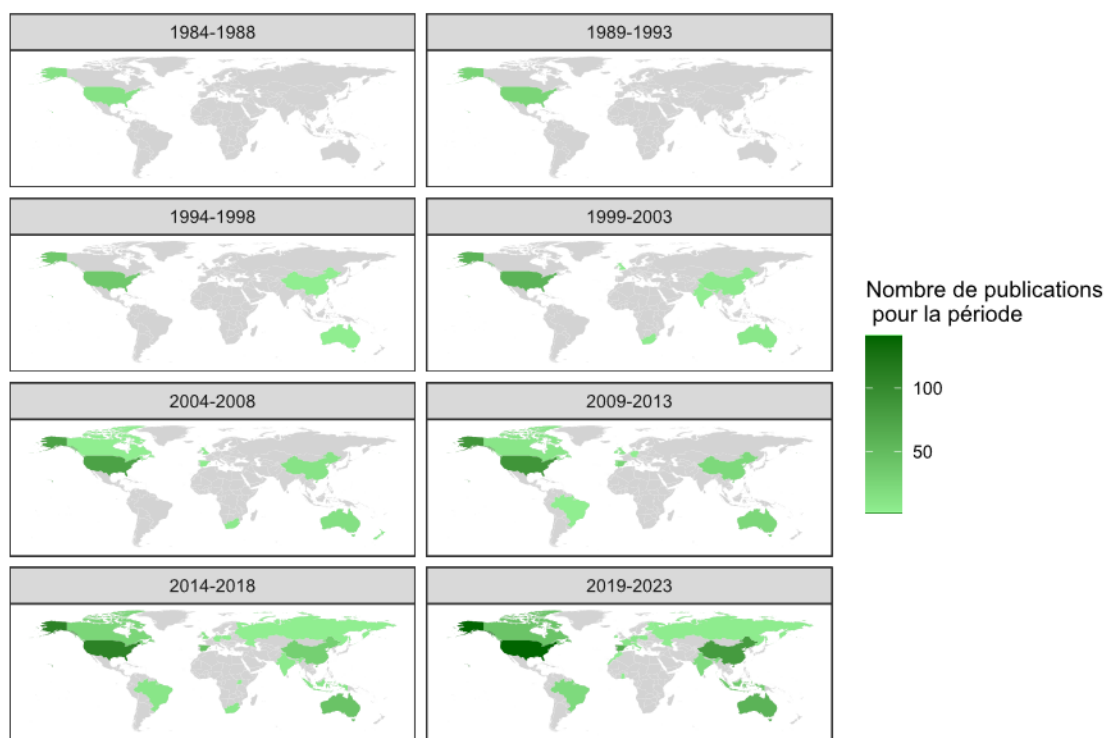
On peut voir que depuis 2019, le ratio est au-dessus de 0%, indiquant que l’accroissement du nombre de publications de la discipline est désormais plus rapide que celui des autres domaines (Figure 2.15). La diminution observée en 2020 est probablement due à l’impact de la crise sanitaire sur la production scientifique.

Si l'on observe l'affiliation des chercheurs sur les publications, le premier pays à avoir travaillé au développement de solution d'amélioration de substrat pour la végétalisation des substrats miniers est les États-Unis d'Amérique (Figure 2.16). À l'aube des années 2000, la Chine et l'Australie ont commencé à publier leurs premiers articles scientifiques dans la discipline, assez rapidement rejoints par d'autres pays exploitant des ressources minières, notamment le Royaume-Uni, l'Afrique du Sud et l'Inde. Aux alentours de 2005, le Canada a commencé la publication d'articles scientifiques dans la discipline, à l'exception de quelques articles sporadiques avant les années 2000 (Sansom et al., 1998). Depuis, le nombre de publications sur le sujet augmente de manière croissante au Canada (Figure 2.17).



Source : OpenAlex, 2024

Figure 2.16 Cartes du nombre de publications dans la discipline par période et par pays, selon l'affiliation de l'auteur principal (auteur correspondant ou premier auteur)



Base de données : OpenAlex, 2024

Figure 2.17 Cartes du nombre de publications cumulé dans la discipline par période et par pays, selon l'affiliation de l'auteur principal (auteur correspondant ou premier auteur)

Lorsque l'on regarde la carte du Canada, les trois principales institutions académiques menant de recherches sur l'amélioration de substrat pour la végétalisation des substrats miniers sont l'Université d'Alberta, l'Université de Colombie-Britannique et l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue (en termes de nombre de publications) (Figure 2.18).

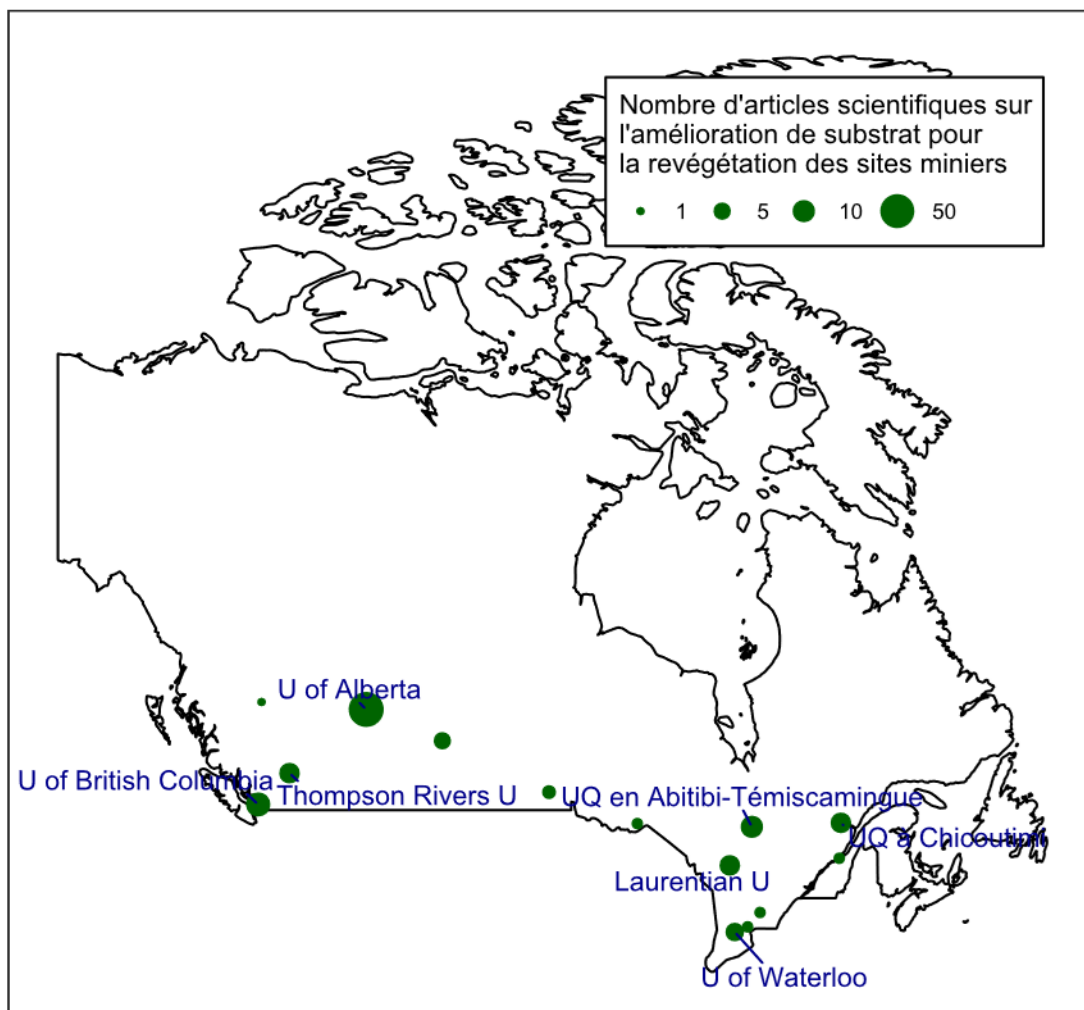


Figure 2.18 Carte du Canada des principales institutions académiques publiant des travaux dans la discipline.

CHAPITRE 3 FACILITATING EARLY BOREAL FOREST SUCCESSION ON WASTE ROCK USING RAMIAL CHIPPED WOOD MULCH: A FIVE-YEAR STUDY

Simon Taurines^{1,2}, Marie Guittonny¹, Armand Séguin²,

¹Institut de Recherche en Mines et Environnement, Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue, Canada

²Centre de Foresterie des Laurentides, Natural Resources Canada, Canada

Submitted November 27, 2023, and published June 1st, 2024, in *Forest Ecology and Management*, 561 (2024), Elsevier BV

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2024.121860>

Contributions: Simon Taurines: Writing – original draft, Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Data curation. Marie Guittonny: Writing – review & editing, Validation, Supervision, Resources, Project administration, Methodology, Funding acquisition, Conceptualization. Armand Séguin: Writing – review & editing.

3.1 Abstract

After a mine is closed, waste rock storage areas must be revegetated to facilitate the return of ecosystem services and meet legal and social expectations. The restoration of forest ecosystems on waste rock through spontaneous colonization associated with primary succession can take decades and is still poorly studied. Adding a mulch of ramial chipped wood (RCW) could improve the physicochemical properties and microclimate conditions of waste rock, thus facilitating substrate colonization by plants. In 2016, a fully randomized block design was installed on waste rock from a closed gold mine located in the boreal forest in Abitibi-Témiscamingue, Quebec, Canada. The design included four treatments: scarified waste rock as the control (WR), 2 cm of RCW mulch on top of scarified waste rock (RCW/WR), and 10 cm layer of sand on top of scarified waste rock with or without 2 cm of RCW mulch (RCW/S and S, respectively). Over a period of five years, we followed the natural colonization of forest species as well as abiotic (substrate microclimate

conditions and physicochemistry) and biotic (herbaceous plant colonization) factors influencing woody plant colonization success. Six boreal woody species spontaneously colonized the area (five individuals per m², on average, all species combined). *Salix sp.* and *Picea glauca* seedlings were more abundant on substrates with RCW mulch (especially sand) than those without mulch, and *P. glauca* had greater aerial biomasses with RCW mulch. Substrate water content during the growing season and the presence of the weed species *Tussilago farfara* were determining environmental factors in substrate colonization by *Abies balsamea*. In the absence of *Tussilago farfara*, RCW mulch increased *A. balsamea* colonization. RCW mulch increased the total cover of colonizing herbaceous plants (23.3–58.2%) as compared to mineral substrates alone (4.78–52.3%), which negatively affected the number of *A. balsamea* individuals. The colonizing herbaceous species were mostly primary succession species, *Pilosella caespitosa*, *Anaphalis margaritacea*, and *Tussilago farfara* being dominant; no exotic species were observed. The results highlight the potential of RCW mulch in promoting forest recolonization on waste rock, including mid-successional species like *Picea sp.*, which could be useful for facilitating ecosystem succession in post-mining landscapes.

Keywords: afforestation of mine wastes, forest ecological restoration, organic matter addition, soil microclimate, soil physicochemistry, weed competition

3.2 Introduction

Waste rock is a waste from the mining industry, along with tailings (Aubertin et al., 2002). The storage of waste rock in piles produces very coarse substrates containing few fine particles, and are therefore particularly draining (Bolan et al., 2017; Matinde et al., 2018). There are few studies on the restoration of ecosystems on technosols formed by waste rock (Bouchard et al., 2018; Cooke & Johnson, 2002; Grimond et al., 2023; Lima & Mendanha, 2019). These substrates are characterized by an absence of seed banks and roots, few available macronutrients, and low water retention (Bussière & Guittonny, 2020; Cooke & Johnson, 2002; Tordoff et al., 2000). These are extreme conditions for the immediate establishment of woody species characteristic of the boreal forest community (Babi et al., 2023; Bussière & Guittonny, 2020; Madejón et al., 2021; Tordoff et al., 2000).

The spontaneous colonization of mining substrates such as waste rock corresponds to a context of primary succession (Bussière & Guittonny, 2020; Prach & Walker, 2020; Walker & Del Moral, 2003, 2009a) without any biological inheritance and organic matter at the surface of the substrate, resulting in a lack of initial microbes, a lack of nutrient cycling and available nutrients (Prach & Walker, 2020). A large part of the studies on primary succession in a boreal context focuses on chronosequences after natural disturbance (Chapin et al., 1994; Prach & Walker, 2020). However, the real-time study of the spontaneous colonization of waste rock and of its underlying mechanisms is still poorly documented (Fickert & Grüniger, 2018; Forbes & Jefferies, 1999; Prach & Walker, 2019). Given the absence of biological inheritance, the ecosystem trajectory is more uncertain than in secondary succession (Coradini et al., 2022) and novel ecosystems can sometimes emerge (Palmer et al., 2016a; Prach & Hobbs, 2008; Rydgren et al., 2019).

Soil development, through pedogenesis and the formation of a clay-humus complex, modifies the physical and chemical properties of the soil, such as porosity, water-holding capacity and thermal conductivity, thereby influencing temperature, humidity and other microclimatic conditions crucial for seed germination, plant growth and the establishment of successive species (Walker & del Moral, 2009a). Some authors have demonstrated in a meta-analysis that the predominant environmental variables in the establishment of vegetation cover in the context of primary succession are soil pH, texture, and temperature, as well as the water content of the substrate of the disturbed area (Coradini et al., 2022). An exogenous supply of organic matter could provide the natural conditions to accelerate the process of spontaneous succession on a mining substrate.

Ramial Chipped Wood (RCW) is a material composed of branches less than 8 cm in diameter from pruned woody individuals. This material has been more extensively studied in an agricultural context than in the context of the restoration of disturbed sites (Breton et al., 2016; McConkey et al., 2012). There are numerous studies on the use of organic materials and amendments in mine site revegetation, but the use of RCW for the revegetation of waste rock is still poorly documented (Taurines, 2019). RCW has an elevated C:N (around 19–21) (Barthès et al., 2010; Ndayegamiye & Dubé, 1986). The coarse crushing of the twigs combined with the scarification of the substrate allows the creation of roughness and microsites on the surface of the substrate. RCW has interesting

water retention characteristics when mulched and could improve microclimatic conditions for plant establishment (Barthès et al., 2010; Hunt et al., 2010; Li et al., 2019; Pavlů et al., 2021; Tang et al., 2022). RCW has also been shown to stabilize soil surface temperature variations, thereby reducing extreme temperatures affecting plant survival (Rafi & Kazemi, 2021; Tang et al., 2022). Moreover, RCW mulches could preferentially facilitate the colonization of woody species on disturbed sites at the disadvantage of herbaceous species (Infalt & Young, 2008). It can indeed be used to control herbaceous weeds that can be competitive towards forest species (Granatstein et al., 2008). It is recommended to favor RCW made from hardwoods over RCW made from conifers for quicker decomposition (Breton et al., 2016).

Woody species in the boreal forest do not all establish during the same stages of primary succession (Walker & del Moral, 2011). Some pioneer species quickly become dominant in the early stages (Buma et al., 2017), like willows (*Salix spp.*) (Buma et al., 2017; Synan et al., 2021), which are often used in revegetation work on mining wastes (Caterino et al., 2020; Cooke & Johnson, 2002; Guittonny-Larchevêque & Lortie, 2017; Mosseler & Major, 2022; Sylvain & Mosseler, 2017). Other species such as jack pine (*Pinus banksiana*), white birch (*Betula spp.*), and poplar (*Populus spp.*) are capable of rapidly colonizing substrates that are poor in nutrients or after strong disturbances (Robbins & Matthews, 2010; Synan et al., 2021; Van der Burght et al., 2012) and are considered as early secondary successional species (Bergeron & Dubue, 1988; Lafontaine & Payette, 2012). In the balsam fir–white birch bioclimatic sub-domain, the successional role of the balsam fir (*Abies balsamea*) is ambiguous (Chen & Taylor, 2012). Other species such as spruce (*Picea sp.*) and maple (*Acer sp.*) establish during the succession (Diggins, 2013; Klaar et al., 2015; Laliberté & Payette, 2008). These species tend to be considered mid-successional to late-successional species (Diggins, 2013).

The objective of this study is to evaluate the effect of a willow RCW mulch to facilitate the early passive colonization of woody species that are characteristic of the boreal forest on gold mine waste rock, by examining not only how RCW directly promotes this colonization, but also by exploring how it modifies the physical, chemical and biological properties of the substrate, thus creating more favorable conditions for the natural establishment of these species. The hypotheses are:

H1: The number of individuals per square meter and the biomass of boreal pioneer woody species will be greater on mineral substrates covered with RCW mulch than on mineral substrates alone the first five years of colonization. These responses at the woody species level will be explained by the three following hypotheses at the substrate level.

H2: During the growing season, mineral substrates covered with RCW mulch will have a higher volumetric water content, a lower number of days where the volumetric water content limits root water uptake, and lower temperature variations than those without mulch.

H3: Mineral substrates covered with RCW mulch will have higher total and available concentrations of essential macronutrients (K, N, P, Ca, Mg, S) than those without mulch.

H4: The total covering of weed plants will be decreased on the mineral substrates covered with RCW compared to non-covered mineral substrates.

3.3 Materials and methods

3.3.1 Site characteristics and study area

The experiment was conducted at the Lapa gold mine site (Agnico Eagle Mines Ltd.). The site is near the city of Rivière-Héva, in Abitibi-Témiscamingue, Quebec, Canada (48°13'44" N, 78°17'00" W) (Figure 3.1).

The mine was in operation from May 2009 until the end of 2018. The mine comprised more than 63 km of underground galleries over 1,350 m deep; during its lifetime, the project extracted 872,000 tonnes of gold. The total area of the site to be reclaimed is approximately 14 ha, including the place where waste rock was temporarily piled before being reused for construction on another site, the water treatment basin, the access roads to the site, the parking lot, and the area occupied by the buildings and the headframe.

The experimental setup took place in fall 2016 on a 30 m × 30 m deposit of waste rock, used as an area for maneuvering machinery. In 2009, this area was used for the temporary storage of blasting explosives. The waste rock produced by the mine is a mix of schist (chlorite-biotite schist, chlorite-talc schist, and silicified schist), greywacke, and volcanic mafic rocks (Lapa mine closure plan, Agnico Eagle Mines Ltd 2008). The study area is surrounded by the adjacent forest. The vegetation zone of the site is the boreal forest, and

the plant population is characteristic of the bioclimatic domain of the western balsam fir–white birch (Blouin et al., 2002). The growing season lasts from mid-May to the end of October. According to Quebec historical climate data from 1981 to 2010, the average annual temperature in Rivière-Héva is 1.5 °C and the total average precipitation is 874.8 mm per year, including 643.2 mm of rain and 236.7 cm of snow (Québec, 2010b). The altitude of the study site is about 310m.

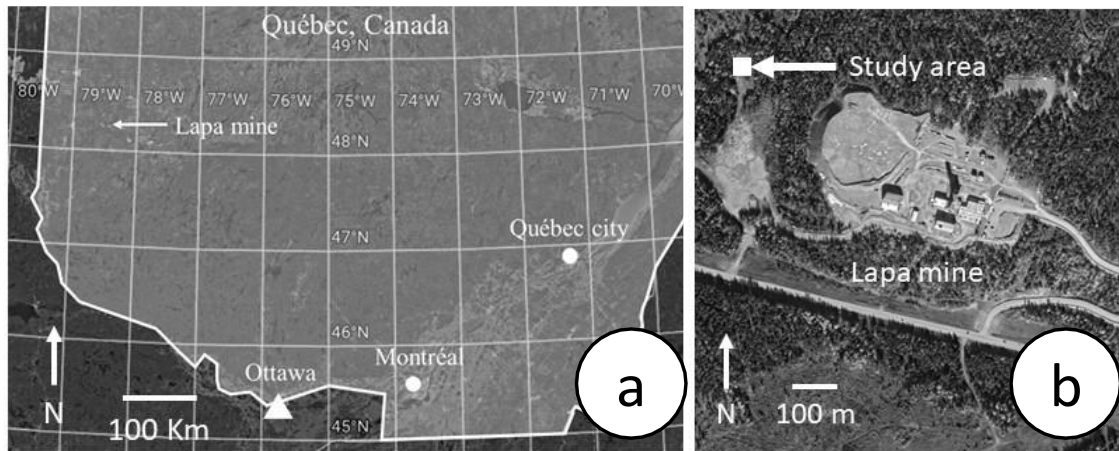


Figure 3.1 Spatial location of the study area. a. Location of the Lapa mine site in the province of Quebec in Canada (Landsat © / Copernicus program, 2020). b. Location and size of the study area on the mine site (CNES © / Airbus ©, 2020).

3.3.2 Forest inventory

We carried out a forest inventory to determine the composition of the tree species community in the undisturbed nearby forest, as well as the proportion of mature seed-bearing individuals in this community. The inventory of woody plants was carried out in mid-September 2021. Three rectangular areas of 400 m² each were sampled. These areas were located in the forest surrounding the site, about 50 m from the study area. The maturity of the seed-bearing trees was determined according to two criteria: the diameter at breast height (DBH) and the aerial height of the individuals. According to the information found in the literature (see complementary Table F.1 in ANNEXE F), we determined the minimum DBH and the minimum height for each species to consider an individual as a mature seeder in the inventory. For mature trees, the DBH was obtained from the diameter

of the tree at 1.3 m. The height of the tree was obtained using a clinometer (*Suunto*© PM-5/360 PC). A single person carried out all these measurements to avoid any bias. The average number of individuals per species exceeding 1 m in height was measured for all woody species, in addition to the average number of mature individuals per forest tree species. We also calculated the average relative abundance of mature individuals per species. The results are presented in Table 3.1.

Table 3.1 Tree composition of the forest adjacent to the experimental setup. Mature trees were defined according to maturity criteria for each species based on the diameter at breast height and the height of the individuals (references to determine the theoretical mature DBH and height for each species are available in the Table F.1 of the supplementary material in ANNEXE F). The composition is presented through the average number of individuals, as well as through the relative abundance of the species. The standard errors are provided in parentheses.

Woody species	Average number of individuals / 400 m ²			Average relative abundance / 400 m ² (%)		
	Height mature ind.	DBH mature ind.	> 1 m ind.	Height mature ind.	DBH mature ind.	> 1 m ind.
<i>Abies balsamea</i>	6.67 (2.73)	6.33 (2.4)	122.33 (42.9)	50.66 (15.66)	45.96 (17.72)	63.67 (9.95)
<i>Betula papyrifera</i>	2.33 (0.33)	4 (1)	6.33 (1.86)	20.04 (6.67)	28.45 (7.92)	3.97 (1.72)
<i>Pinus banksiana</i>	2 (-)	3.0 (-)	3.0 (-)	14.3 (-)	17.6 (-)	2.2 (-)
<i>Picea glauca</i>	2 (1)	2.5 (1.5)	4.67 (1.86)	13.84 (7.59)	15.93 (7.6)	2.63 (1.11)
<i>Acer</i> spp.	2 (1)	1 (0)	37 (6.11)	13.84 (7.59)	7.11 (1.23)	22.85 (6.44)
<i>Populus tremuloides</i>	1 (0)	1 (0)	3 (1)	9.13 (1.98)	6.51 (0.63)	1.8 (0.69)
<i>Prunus pensylvanica</i>	-	-	5 (2.52)	-	-	3.09 (1.63)

Table 3.1 (suite)

Woody species	Average number of individuals / 400 m ²			Average relative abundance / 400 m ² (%)		
	Height mature ind.	DBH mature ind.	> 1 m ind.	Height mature ind.	DBH mature ind.	> 1 m ind.
<i>Abies balsamea</i>	6.67 (2.73)	6.33 (2.4)	122.33 (42.9)	50.66 (15.66)	45.96 (17.72)	63.67 (9.95)
<i>Sorbus</i> sp.	-	-	1.5 (0.5)	-	-	0.83 (0.42)
<i>Vaccinium</i> sp.	-	-	1.0 (-)	-	-	0.7 (-)
<i>Corylus cornuta</i>	-	-	1 (0)	-	-	0.68 (0.06)

3.3.3 Experimental design and treatments

The experimental setup measured approximately 900 m². It followed a random complete block design with four plots (N = 4), corresponding to four treatments replicated four times over four blocks, totaling 16 experimental units. The blocks were oriented perpendicular to a slope of about 3–4% present across the entire study area and oriented along an east-west axis. In August 2016, the surface of the waste rock was scarified with the bucket teeth of a mechanical shovel to a depth of 5–10 cm, first in the direction of the slope and then in the perpendicular direction, over the entire experimental setup (Allison et al., 2003; Wurtz & Zasada, 2001). Then, the treatments were established in square plots with an individual area of 25 m² (5x5 m), 2.5 m apart from each other. In each block, the positions of the four treatments were selected randomly. Among the four treatments, two received a 10 cm-thick layer of sand above the scarified waste rock. One of the two treatments with sand and one of the two treatments without sand received a 2 cm-thick surface layer of willow RCW. Therefore, the four tested treatments were as follows (Figure 3.2):

- Scarified waste rock only (WR),
- 10 cm-thick layer of sand over WR (S),
- 2 cm-thick mulch of RCW over WR (RCW/WR), and
- 2 cm-thick mulch of RCW over S (RCW/S).

The RCW was produced from chipped willow branches with a maximum diameter of 8 cm, using a wood-chipper machine in southern Quebec and then transported to Abitibi. The RCW was stored outside in a pile for a year before use. The sand came from a borrow pit situated on the Lapa mine site.

Twelve bulk samples, four per material type (waste rock, sand, RCW), were collected during the installation of the experimental setup in 2017. The positions of the four samples from each mineral material (sand and WR) were chosen randomly in the experimental setup. Bulk samples from the adjacent undisturbed forest were also randomly collected as reference for soil chemical composition. The particle size distribution of the mineral materials (sand and WR) composing the treatments was initially characterized (Table 3.2). The particle size distribution was obtained using two characterization methods: manual sieving for the coarse fraction and laser diffraction (Malvern Mastersizer 2000 ©) for the

finer fraction, according to the ASTM D422. The results of the two methods were reconciled, and the grain size classes were calculated according to the USDA textural classification (ISO 14688-1: 2002). In August 2017, the chemical characterization was performed on the mineral materials and RCW samples by the Lakehead University Environmental Laboratory. This characterization included the determination of electrical conductivity (1:2 with deionized water), total nitrogen (combustion with *Elementar CHNS* ©), organic matter concentration (muffle furnace method), pH in saturated paste, and total elements concentrations (Ag, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Sn, Mg, Mn, Mo, Ni, Na, P, Pb, Se, Zn) by acid digestion followed by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES; EPA 3051a).

Table 3.2 Grain size distribution of coarse and fine particles in waste rock (WR) and sand (S) materials, according to USDA textural classification (ISO 14688-1:2002). Mass percentage was obtained from the mass of sieve residue over the total mass of the sample.

Class	Sub-Class	Grain Size (mm)	Mass percentage (%)			
			WR		S	
	Coarse Gravel	>20	4.4		3.3	
Gravel	Medium Gravel	6.3–20	31.6	65.7	6.0	18.0
	Fine Gravel	2.0–6.3	29.7		8.7	
	Coarse Sand	0.63–2.0	10.2		6.0	
Sand	Medium Sand	0.2–0.63	7.2	20.0	36.3	72.9
	Fine Sand	0.063–0.2	2.6		30.5	
	Coarse Silt	0.02–0.063	3.6		4.7	
Silt	Medium Silt	0.0063–0.02	6.4	13.3	2.5	8.5
	Fine Silt	0.002–0.0063	3.3		1.3	
Clay	Clay	<0.002	0.97		0.67	
USDA textural classification (fine earth <2 mm)			Sandy Loam		Sand	

In May 2017, nine quadrats measuring 1 m² were positioned 50 cm apart in each plot. There were therefore 144 quadrats distributed over the entire experimental setup, of which 80 were not sown to allow natural colonization by the plant species around the experimental setup.

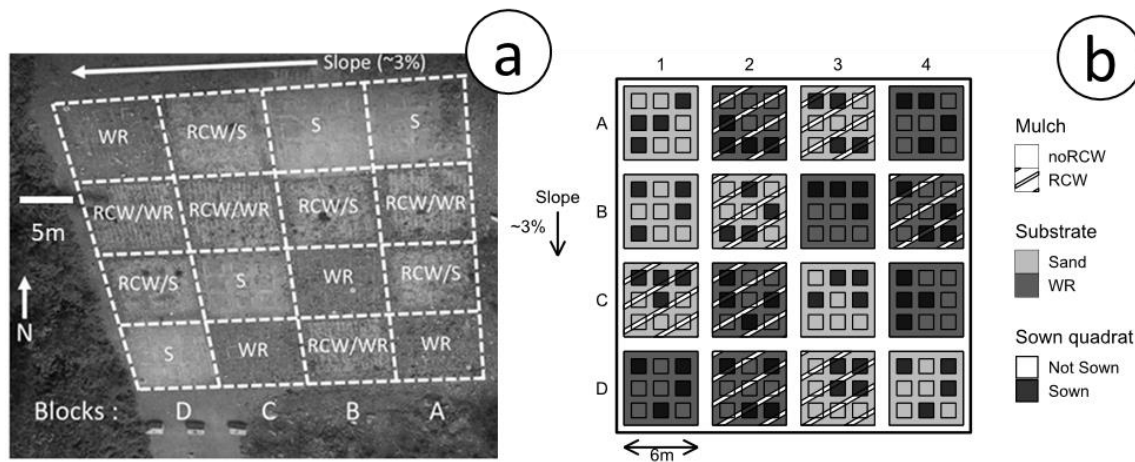


Figure 3.2 Schematic representation of the experimental design. a. Study area and experimental design photographed by a drone (image from Agnico Eagle Mines Ltd, 2020). b. Design of the experimental setup: the light gray plots have a layer of 10 cm of sand over the scarified waste rock, the dark gray plots only have scarified waste rock, and the striped plots have a 2 cm layer of RCW over mineral substrates.

3.3.4 Monitoring, data collection, and measurements

Data collection started in summer 2017 and ended in fall 2021, which corresponds to a monitoring period of five growing seasons.

3.3.4.1 Monitoring the natural colonization of woody species

Each year, two surveys were carried out in all the quadrats in the experimental setup to count the number of individuals per square meter for each woody species. The first survey took place systematically at the end of July to take into account the spring germination of some woody species (e.g., *Salix sp.*, *Populus sp.*). The second survey took place in mid-October, at the end of the growing season. However, during the fall data collection, the hardwood species had often lost their leaves, which prevented their identification. We

grouped together all the hardwoods in the count and compared the total counts of hardwoods obtained in the fall with those obtained in the summer to assess the mortality between these two periods.

In 2017, the individuals that had germinated at the site were too small to be identified and only discrimination between deciduous and conifer woody species was possible.

3.3.4.2 Monitoring of natural colonization by herbaceous plants

The herbaceous plant cover (total and by species) and specific contribution were measured using the point intercept method (Jonasson, 1988) on the quadrats. To calculate the herbaceous cover, a 1 m² frame was used, with nine strings from one edge of the frame to the other. On each string there were 10 equidistant points. This created 90 measurement points, spaced by 10 cm. The herbaceous cover was calculated as follows:

$$C = \frac{Nc}{Nt} \times 100 \quad (3.1)$$

where C is the plant cover (%), Nc is the number of measurement points where there is at least one contact with a plant, and Nt is the total number of measurement points on the frame.

The specific contribution (SC) was calculated using the following formula:

$$SC_s = \frac{Nc_s}{\sum Nc_i} \quad (3.2)$$

where SC_s is the specific contribution of the species (%), Nc_s is the number of measurement points where there is at least one contact with a plant species, and $\sum Nc_i$ is the sum of the Nc of all species in the quadrat. This calculation provides a measure of the relative importance of each species in the herbaceous cover, in terms of the frequency of its occurrence at the measurement points. The number of plant families was extracted for each quadrat. The different families and species were identified with the *Laurentienne* flora reference book for the identification of weed species in Quebec, Canada (Marie-Victorin, 1944). The species were preliminarily identified using Seek by iNaturalist ©, a mobile application relying on a deep learning model to help reliably identify plants from photographs (Hart et al., 2023). To ensure the reliability of the identifications, at least one

botanical expert was present in the field at all times, to confirm their accuracy and minimize the uncertainties associated with using this technology.

3.3.4.3 Microclimatic conditions

3.3.4.3.1 Soil volumetric water content and temperature monitoring

The volumetric water content was measured every hour beginning on June 9, 2017 using 16 ECH₂O EC-5 probes (frequency domain reflectometry probes, Meter Environment ©, USA, 3% error range) with a datalogger (EM50, Meter Environment ©, USA) collecting data from two probes. One probe was placed in the center of each plot at a depth of 5 cm below the surface (not including the RCW layer). A calibration for each substrate type (waste rock and sand) was conducted to convert the values from mV into volumetric water content.

The soil temperature was measured by using 12 Rugged Temp Sensor Stereo probes (RT1, Meter Environment ©, USA) placed in the center of three randomly chosen plots for each treatment at a depth of 5 cm below the surface (not including the RCW layer), with a datalogger (EM50, Meter Environment ©, USA) collecting data from two probes. The position of the probes according to each treatment thickness is described in Figure 3.3.

In 2018, animals (foxes or coyotes) destroyed certain wires of the data recording device (dataloggers and probes), compromising the collection of these data. Therefore, the decision was made to remove the 2018 volumetric water content data from the analysis. The probes were replaced by 5TM probes (Meter Environment ©, USA, 3% error range); monitoring resumed at the end of fall 2018 and data was available for 2019 and 2020.

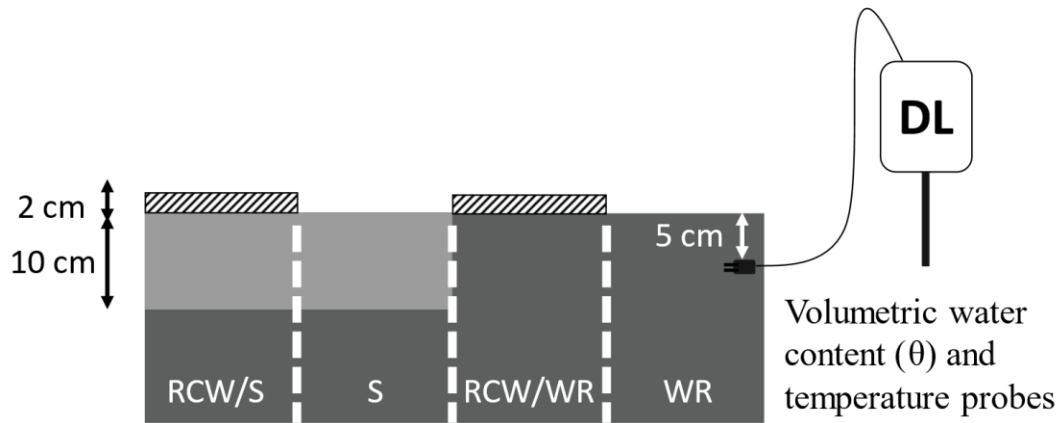


Figure 3.3 Position of the EC5 and RT1 (followed by 5TM) probes in the substrates according to each treatment thickness. DL: datalogger; striped lines: RCW layer; light grey: sand layer; dark grey: waste rock.

3.3.4.3.2 Calculation of the number of days at different soil suctions

Since the value of the wilting point is not well known for the tree species we studied, three benchmark values of soil suction (Ψ) were used to identify periods of water stress for tree seedlings: 10, 100, and 1,000 kPa. This allowed the number of days when the soil had a suction (Ψ) greater than 10, 100, and 1,000 kPa to be calculated from the volumetric water content (θ) data obtained from the probes.

To establish the relationship between the volumetric water content (θ) of the WR and the suction (Ψ), we measured couples of Ψ and θ using a column test method to obtain the soil water retention curve of the waste rock (Chapuis et al., 2007). This method was used because waste rock is a material whose hydrogeological properties cannot easily be predicted based on basic geotechnical properties (Chapuis et al., 2007). An acrylonitrile butadiene styrene (© G+ Plastics) column measuring 70 cm in height and 30 cm in diameter was used to determine the gravimetric water content (w) measurements following a water suction gradient (elevation) in the soil. A sample of WR of approximately 100 kg was homogenized, dried, and placed in the column to fill the volume of the column while packing the material in order to obtain the measured bulk density in situ ($\rho = 1.36 \text{ kg.m}^{-3}$). The material in the column was wetted to saturation, then drained for 24 hours (Chapuis et

al., 2007). The water content for six elevation points (corresponding to negative head pressure or suction) was measured.

A soil water retention curve was fitted on the observed data according to Van Genuchten's equation. The *nls* R package was used to estimate the parameters θ_s , θ_r , α , and n of Van Genuchten's equation with a least square means optimization approach (Clark et al., 1992; Van Genuchten et al., 1991).

To determine a soil water retention curve for the sand, we used the modified Kovaks predicting method from three geotechnical properties of the material: grain size distribution parameters, in situ bulk density ($\rho = 1.6 \text{ kg.m}^{-3}$), and specific gravity ($G_s = 2.72$) (Aubertin et al., 2003). The specific gravity was obtained using a helium pycnometer (ASTM, 2023). The bulk density of the mineral substrates was measured using the sand cone method following the ASTM D1556 standard (ASTM, 2015).

The soil water retention curve of the two materials (sand and WR) are presented in Figure 3.4. The values of volumetric water content corresponding to matric suctions of 10, 100, and 1,000 kPa for both mineral substrates are presented in Table 3.3. The precision of the EC5 probes was $\pm 2\%$, so we decided to retain only 10 and 100 kPa Ψ values to measure the number of days when the corresponding θ value was below these Ψ values.

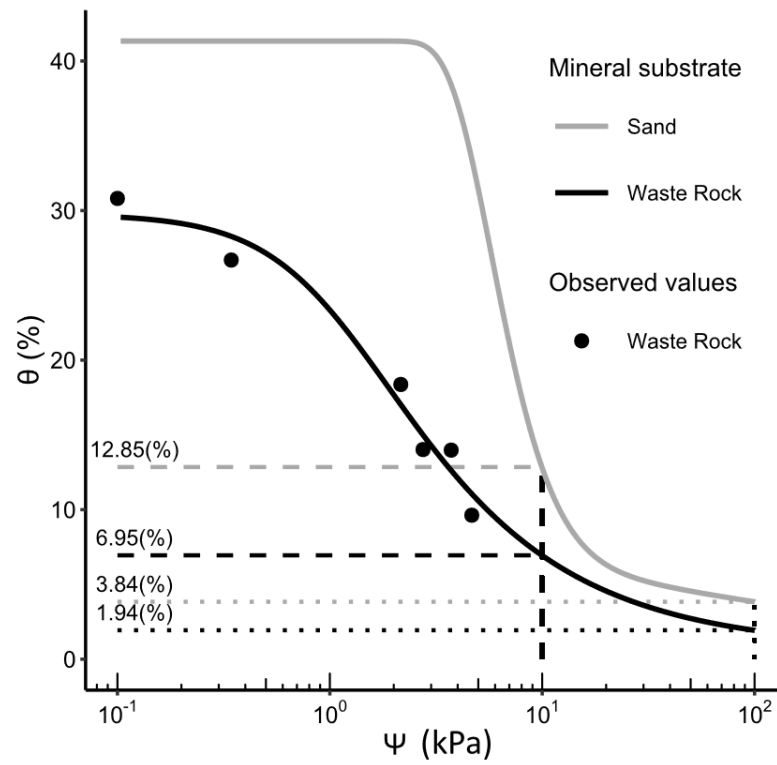


Figure 3.4 Waste rock water retention curve (in black) fitted using observed values with Van Genuchten's equation by applying the least squares method; sand water retention curve (in grey) estimated at from three geotechnical properties and the modified Kovaks equation. The dashed lines show the volumetric water content values at 10 kPa of suction and the dotted lines show the volumetric water content values at 100 kPa of suction for each material, following the same color convention as the water retention curves.

Table 3.3 Suction (in kPa) and associated volumetric water content (in %) for the two materials.

Suction Ψ (kPa)	Volumetric water content θ (%)	
	Sand	Waste rock
10	13	7
100	4	2
1,000	2	1

3.3.4.4 Soil element concentrations

In 2017, available nutrient data in the substrates were collected using 16 Plant Root Simulation probes (*Western AG* ©) in each plot of the experimental setup (Hangs et al., 2004; Qian & Schoenau, 1994). They were installed on June 22, 2017, according to the advice of *Western AG* ©, at the depth necessary to entirely bury the ion exchange resin membrane on the probe (depth of 8–10 cm from the substrate surface, not including the RCW layer). For eight weeks the probes collected the ions (NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-}) present in the available forms; the probes were then sent for analysis at the laboratory of the equipment supplier.

In November 2020, chemical characterization was performed on new substrate samples collected from below the RCW mulch layer, at a depth of 0–10 cm (one sample from each plot in the experimental setup) to compare the results with those from the initial characterization in 2017. This chemical characterization followed the same standards as that in 2017 and was performed by the same laboratory (Lakehead University Environmental Laboratory).

3.3.5 Data analysis

A multifactorial hypothesis testing analysis was conducted to examine the effects of two fixed factors on the biological responses of woody species, as measured by the number of individuals in each quadrat over time. The two factors were the type of mineral substrate and the presence of RCW mulch. The blocks were used as a random factor variable in the analysis. The choice of tests in the statistical analysis was made according to the decision chart shown in complementary material 2. All the statistical analyses were run on R open-source statistical software, using packages as *lme4*, *emmeans*, and *rstatix*. The 4.1.2 “bird hippie” R version was used during these analyses (R Core Team 2021). We removed outliers from the analysis; outliers were defined, using the Tukey’s fence method (Tukey, 1977), as data that fell outside the interval: $[Q_1 - k(Q_3 - Q_1), Q_3 + k(Q_3 - Q_1)]$, where Q_1 is first quartile, Q_3 is the third quartile, and k is 1.5 (nonnegative constant for “outlier”).

The effect of the different treatments on the explanatory variables (soil volumetric water content, number of days with $\Psi < 10$ –100 kPa, soil temperature, herbaceous plant cover, herbaceous plant specific contribution, number of herbaceous species/m², and soil element concentrations) was also tested with the same statistical approach.

Thereafter, all the possible simple linear and quadratic regressions between all the response variables and all the explanatory variables were performed using the pipeline-based *map()* function of the *purrr* R package (Henry & Wickham, 2022). The selection criteria for the best regressions were: the possibility of a relationship between the variables according to the scientific literature available to date, the number of observations, the number of distinct observations, and the adjusted coefficient of determination of the model. The minimum threshold for the adjusted coefficient of determination as a criterion for selecting the best models varied depending on the number of observations included: it was 0.35 when all observations from all years of monitoring and all treatments were included, and it was 0.7 when only the results from one year of monitoring were included.

To determine which environmental variables had the greatest effect on the response variables, a reduced parsimonious linear model was obtained by regressive selection of the numerical variables having an a priori effect (according to the literature) on the response

variable, using the corrected Akaike information criterion (AICc). The *step()* function in the package *stats* was used.

The significance level (p-value) was set, by convention, at 0.05 for all these analyses.

Table 3.4 Chemical characteristics of the materials used in the experimental setup before ramial chip wood (RCW) mulching (N = 4, <2 mm fraction) and both organic and organo-mineral horizons of forest soils in reference areas (0–20 cm sampling depth, <2 mm fraction; N = 2), along with Quebec legal limit values concerning metal concentrations in soils (Quebec Government, 2016, Annexe 2, C criterium) (mg.kg⁻¹ dry matter, ppm). These samples were collected in summer 2017. Standard errors are provided in parentheses.

Soil chemical characteristics	Mean (Std Err.)				Allowed limit value in industrial superficial soils
	Treatments			Forest soils (OB horizons)	
	RCW	Sand	Waste rocks		
Organic Matter (%)	95.26 (0.7)	0.32 (0.06)	0.23 (0.08)	20.37 (7.2)	
Electrical Conductivity (mS.cm ⁻¹)	0.27 (0.03)	0.02 (0.004)	0.20 (0.06)	0.19 (0.4)	
Total Nitrogen (% DM)	0.37 (0.03)	0.01 (0.003)	0.01 (0.003)	0.50 (0.2)	
pH (Saturated Paste)	6.86 (0.1)	5.76 (0.2)	7.96 (0.1)	4.74 (0.1)	
Ag (mg.kg ⁻¹ DM)	33 (11.9)	40.8 (0.9)	42.3 (3.6)	42.9 (0)	40
As (mg.kg ⁻¹ DM)	ND	ND	ND	ND	50
Ba (mg.kg ⁻¹ DM)	8.2 (1.2)	27 (1.9)	85 (5.3)	36.3 (6.2)	2,000

Table 3.4 (suite)

Soil chemical characteristics	Mean (Std Err.)				Allowed limit value in industrial superficial soils
	Treatments			Forest soils (OB horizons)	
	RCW	Sand	Waste rocks		
Cr (mg.kg ⁻¹ DM)	ND	77.6 (7)	82.9 (4.7)	42.7 (3.4)	800
Cu (mg.kg ⁻¹ DM)	10.7 (1.3)	31.1 (4.9)	64.6 (4)	17.7 (1.9)	500
Fe (mg.kg ⁻¹ DM)	241 (59)	11,015 (826)	ND	17,61 (1,2)	
K (mg.kg ⁻¹ DM)	1,842 (184)	426 (24)	3,021 (257)	470 (5)	
Mg (mg.kg ⁻¹ DM)	526 (48)	4,410 (355)	ND	4,205 (328)	
Mn (mg.kg ⁻¹ DM)	20.5 (3.3)	134.6 (10.8)	329.9 (17)	354.5 (63.2)	2,200
Na (mg.kg ⁻¹ DM)	94.7 (5.1)	105.9 (20.9)	142.3 (19.1)	138.1 (6.4)	
Ni (mg.kg ⁻¹ DM)	ND	34.9 (2.9)	59.9 (3.9)	23.3 (2.0)	500
P (mg.kg ⁻¹ DM)	521.6 (35)	310.3 (29.3)	ND	342.8 (46.3)	
Pb (mg.kg ⁻¹ DM)	ND	ND	25.74 (1.1)	20.81 (6.9)	1,000
Zn (mg.kg ⁻¹ DM)	56.7 (8.4)	25 (2.7)	66.9 (3.5)	39.7 (3.9)	1,500

DM: dry matter; ND: Not detectable (no observable peak recorded by ICP-AES)

3.4 Results

3.4.1 Effect of treatments on tree populations

3.4.1.1 Effect of treatments on the number of colonizing individuals/m²

The average number of individuals/m² per species that naturally colonized the site throughout the monitoring period, all species combined, was 5.32 ± 0.45 . Since 2018, the average number of individuals/m² per species that naturally colonized the site increased each year, from 1.89 ± 0.32 in 2018 to 6.67 ± 1.03 in 2020. Only 2021 showed a slight decrease in the average number of individuals/m² per species, changing from 6.67 ± 1.03 in 2020 to 6.09 ± 0.96 individuals in 2021. In general, all years and all species combined, the average number of individuals/m² per species on plots with the RCW mulch was more than two times greater (7.22 ± 0.73) than on plots with only a mineral substrate (3.42 ± 0.5) ($p < .0001$) (Figure 3.5.A). All species and all years combined, the average number of individuals/m² was 6.03 ± 0.75 for waste rock and 4.61 ± 0.51 for sand (GLM, $p < .0001$). However, as the interactions between the "mineral substrates", "RCW mulch", "species", and "year" variables were significant, we carried out independent analyses by integrating the nesting of these factors.

The first species that colonized the experimental setup were *A. balsamea* and *Betula papyrifera* in 2017; their first identification at the species level only started in 2018. Subsequently, *Picea glauca*, *Acer* spp., and *Salix* spp. appeared in the plots in 2019. The latest genus to appear in the plots was *Populus* spp. in 2021. In 2021, the most abundant species in the experimental area was *P. glauca*, with 190 individuals, representing approximately 39% of the woody community composition naturally colonizing the site. The other most abundant species were *B. papyrifera* (113 ind.; 23.2%), *A. balsamea* (95.2 ind.; 19.5%), and *Salix* spp. (50.6 ind.; 10.5%). These four species made up 92.2% of the community of woody individuals on the site.

In 2021, all species had more individuals on plots with RCW mulch than those without, but only *B. papyrifera* ($p = 0.04$), *P. glauca* ($p = 0.015$), and *Salix* spp. ($p < 0.01$) had significantly more individuals in the plots with RCW mulch than those without (these ANOVA results were without significant interaction between "mineral substrates" and "RCW mulch" factors).

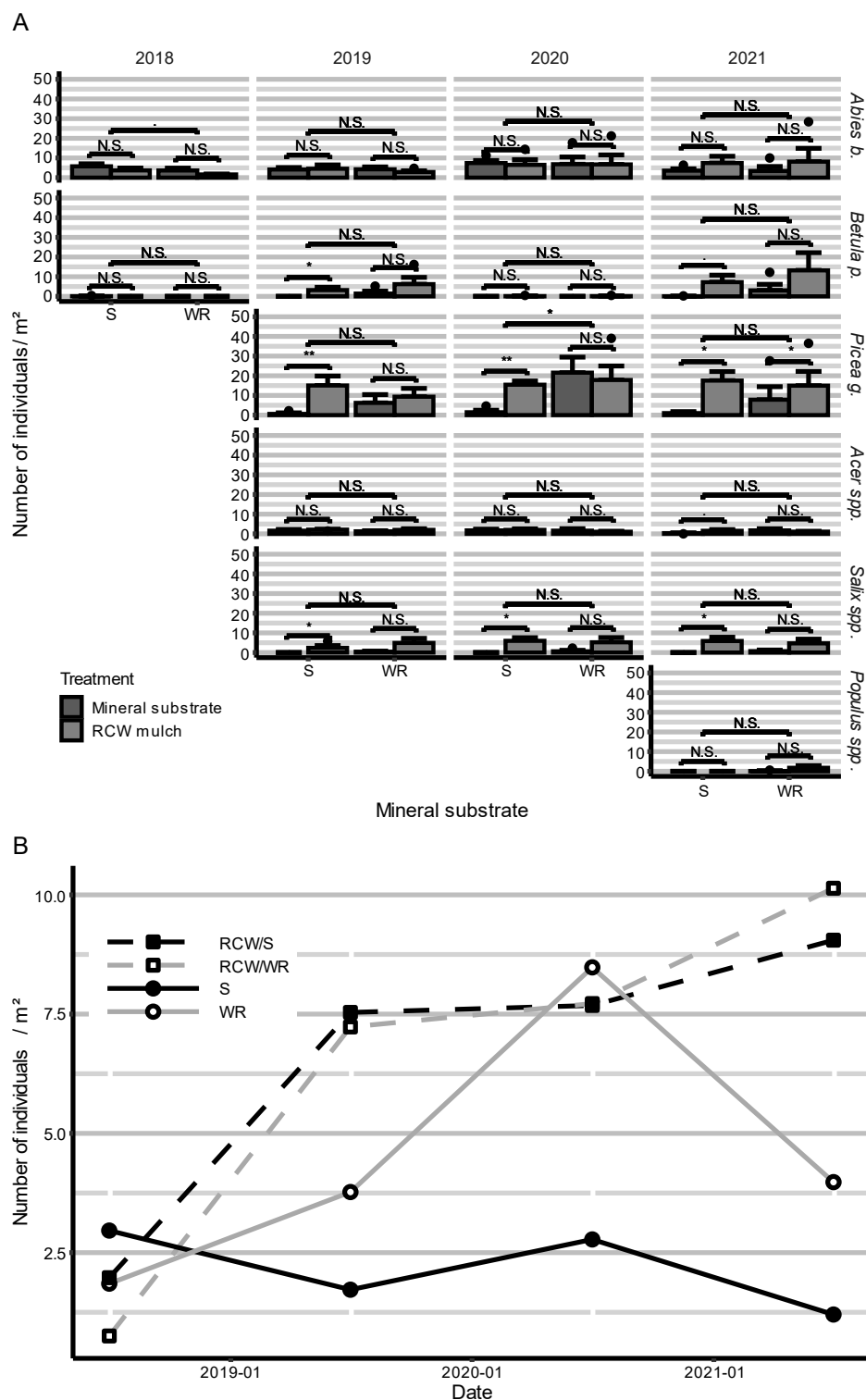


Figure 3.5 A. Annual count of individuals per square meter (2018–2021) differentiated by treatment. The initial graph for each species represents the first year of its appearance. 'S' represents sand and 'WR' represents waste rock as mineral substrates. Dark and light gray

bars denote results on mineral substrates alone and with RCW mulch, respectively. Error bars indicate standard errors. Significance is marked as follows: “N.S.” for $p > 0.08$, “.” for $0.05 < p < 0.08$, “*” for $0.01 < p < 0.05$, and “***” for $p < 0.01$. B. Trend in average count of individuals per square meter for each species, aggregated across all species, over the observation period. Circular markers and solid lines represent mineral substrates alone, while square markers and dashed lines represent mineral substrates with RCW mulch. Solid markers and black lines denote sand as the mineral substrate, whereas hollow markers and gray lines represent waste rock as the mineral substrate.

3.4.1.2 Effect of treatments on seedling biomass (individual and total)

The biomass of *P. glauca* was greater than that of *B. papyrifera*, especially on sand. Due to the interacting nature of the tested factors (species, RCW mulch, and mineral substrate), further analyses were conducted by nesting and testing them independently.

B. papyrifera exhibited a significantly greater individual biomass after four years of growth on sand with RCW mulch (0.05 ± 0.01 g) than on sand alone (0.03 ± 0.01 g, $p = 0.01$) (Figure 3.6). A similar pattern was observed on waste rock, although the difference was not significant (Friedman test, $p = 0.32$) due to the large variance in the RCW-mulched group, despite outlier removal.

After three years of growth, *P. glauca* showed a significantly higher individual and total biomass on sand with RCW mulch (0.4 ± 0.1 g) than on sand alone (0.24 ± 0.14 g, $p = 0.03$). On waste rock, RCW mulch boosted individual biomass more than four times compared to waste rock alone (0.21 ± 0.07 g vs. 0.05 ± 0.03 g, Friedman test, $p = 0.046$).

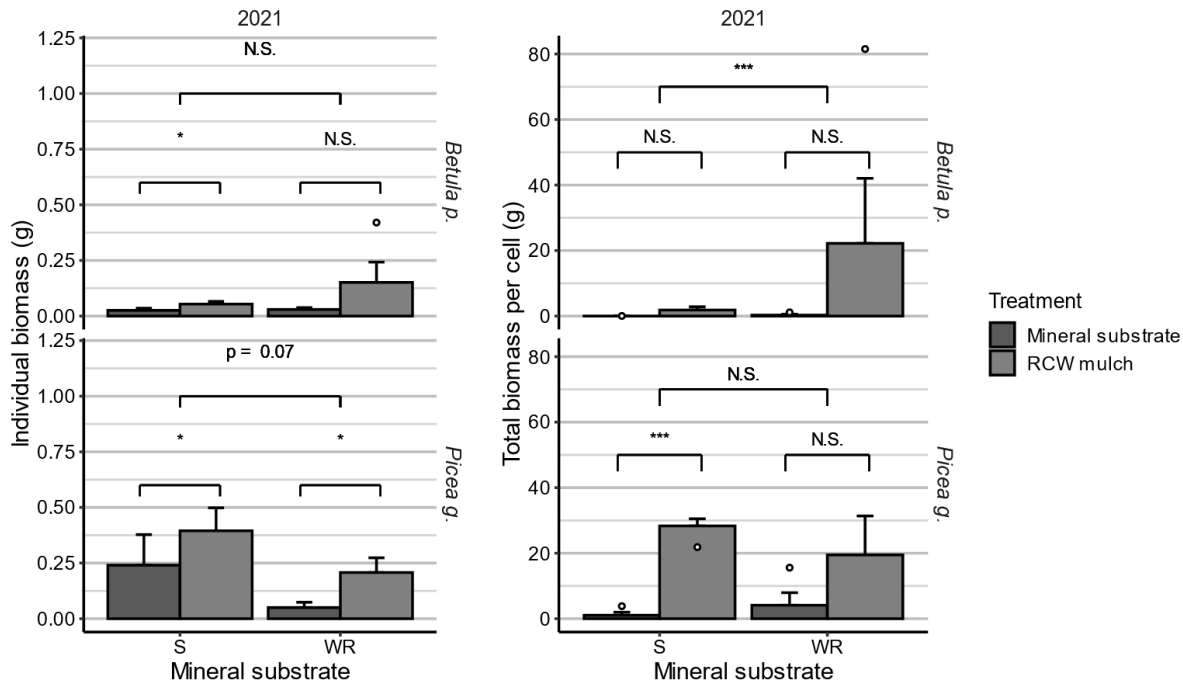


Figure 3.6 Individual (right) biomass and total (left) biomass per plots in 2021 of the species *B. Papyrifera* (top) and *P. glauca* (bottom). 'S' represents sand and 'WR' represents waste rock as mineral substrates. Dark and light gray bars denote results on mineral substrates alone and with RCW mulch, respectively. Error bars indicate standard errors. Significance is marked as follows: “N.S.” for $p > 0.08$, “*” for $0.01 < p < 0.05$, “***” for $0.005 < p < 0.01$, and “****” for $p < 0.005$.

3.4.2 Relationships between environmental variables and the number of woody individuals

3.4.2.1 Microclimatic variables

During the five years of monitoring and over the entire experimental setup, only one woody species was significantly related to microclimatic factors for the development of its population: *A. balsamea*. In this case, it was the volumetric water content of the substrate. For *A. balsamea* only, the higher the volumetric water content (θ) at 10 cm below the soil surface (which corresponds to the exchange zone between the root and the soil), the higher the number of individuals in the quadrat ($r^2 = 0.42$) (Figure 3.7.A). The two variables were significantly and positively related ($p = 0.02$). Also, the number of days during the summer measurement period of the volumetric water

content (θ) during which the soil suction (Ψ) was greater than 100 kPa significantly affected the number of *A. balsamea* individuals present on the plots ($p = 0.03$). The number of individuals was negatively related to the number of days when $\Psi > 100$ kPa ($r^2 = 0.48$) (Figure 3.7.B). This implies that when there is an increase in the number of days on which water is less available in the soil (e.g., in the case of a summer drought event), the number of *A. balsamea* individuals would be negatively affected.

During the two years of the monitoring period when the balsam fir population was affected by the volumetric water content of the soil, the volumetric water content (θ) was significantly higher in the sand ($13 \pm 1.3\%$) than in the waste rock ($4.7 \pm 1\%$) ($p = 0.02$). In contrast, the mean volumetric water content did not differ between the plots with RCW mulch and those without ($p = 0.6$), with means of $11.2\% (\pm 2.1\%)$ and $10.2\% (\pm 2\%)$, respectively. The number of days where $\Psi > 100$ kPa was affected in the same way as the volumetric water content by the treatment and by the type of mineral substrate ($p = 0.21$ and $p = 0.002$, respectively).

Although there was no significant difference, during each growth period the average soil volumetric water content was always higher in plots with RCW mulch than those without. Similarly, during each growth period the number of days where $\Psi > 100$ kPa was on average higher in plots without RCW mulch than those with it.

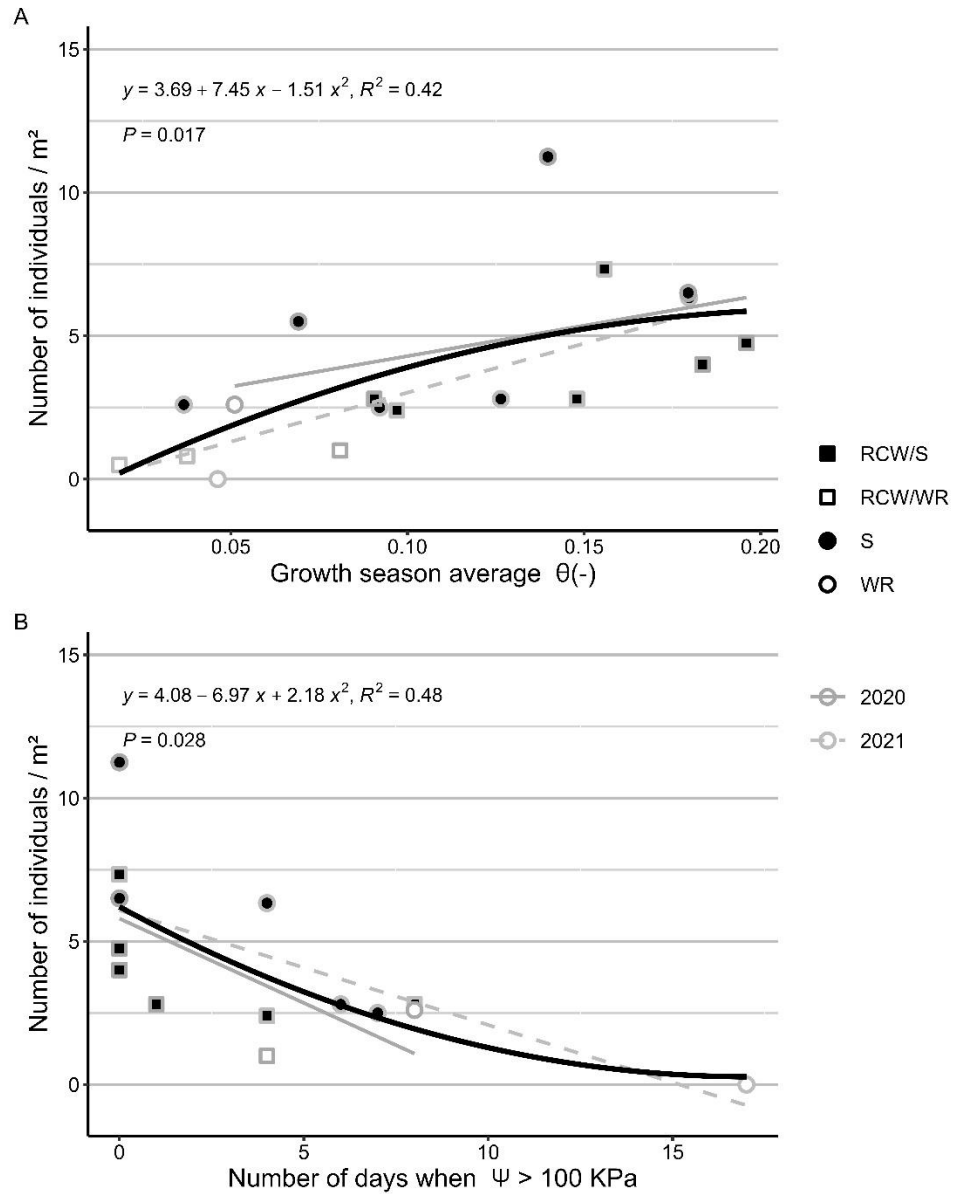


Figure 3.7 A. Polynomial relationships between the number of *A. balsamea* individuals per square meter and the mean volumetric water content (θ) throughout the growing season. B. Polynomial relationships between the number of *A. balsamea* individuals per square meter and the number of days when the substrate's suction (Ψ) exceeded 100 kPa. Both figures: The yearly linear regressions are delineated by a solid line for 2020 and a dashed line for 2021. The overarching trend is depicted by a curve, which is derived from a second-degree polynomial equation. Symbols encased within circles represent data gathered exclusively from the mineral substrate, while those encased within squares signify RCW mulch on the

mineral substrate. Filled symbols correspond to the sand as a mineral substrate, and empty symbols represent waste rock as a mineral substrate.

3.4.2.2 Physicochemical variables

In 2018, *P. glauca* populations were related to the physicochemical properties of the soil on plots without RCW. The number of individuals per square meters of *P. glauca* was significantly positively related to the concentration of potassium ion $[K^+]$ in the soil of the quadrat ($R^2 = 0.91$, $p = 0.003$)

In the same year, the potassium $[K^+]$ concentration was significantly higher ($p = 0.002$) on waste rock plots without RCW mulch, with an average of $2,928 \mu\text{g.g}^{-1}$ (± 472), than on sand plots without mulch, with an average of $502 \mu\text{g.g}^{-1}$ (± 26.9).

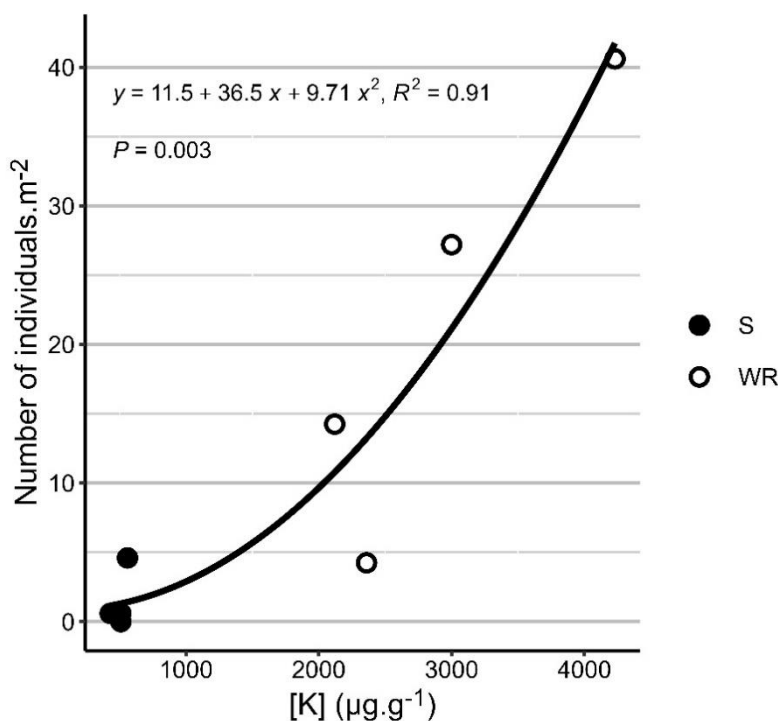


Figure 3.8 Quadratic relationship between the number of *P. glauca* individuals per square meters and the concentration of potassium $[K^+]$ in the two mineral substrates, as observed in 2018.

Filled symbols correspond to sand and hollow symbols refer to waste rock.

3.4.2.3 Biological variables

From 2019 to 2021, the development of the *A. balsamea* population was related to the spontaneous colonization of herbaceous species on the experimental setup. The number of individuals/m² of *A. balsamea* was significantly and negatively related to total herbaceous plant cover ($r^2 = 0.42$, $p < 0.001$, polynomial regression). Two herbaceous species contributed to this relationship: *Pilosella ceaspitosa* and *Tussilago farfara*. The number of individuals/m² of *A. balsamea* was significantly and negatively related to the cover of *Pilosella ceaspitosa* ($r^2 = 0.38$, $p = 0.003$, polynomial regression). The relationship of the number of individuals/m² of *A. balsamea* with the cover of *Tussilago farfara* described an exponential decay curve. The curve was fitted using the least squares method and a pseudo coefficient of determination (pseudo- r^2) was calculated from the linear regression of the predicted values as a function of the observed values for each year. For 2019 and 2020, this relationship described a strong decrease in the number of individuals/m² with the increase of the *T. farfara* cover (2019 pseudo- $r^2 = 0.49$ and 2020 pseudo- $r^2 = 0.56$, $p = 0.01$ for both).

From 2019 to 2021, the herbaceous cover was significantly greater on plots with RCW mulch than on plots without mulch ($p < 0.001$). Herbaceous cover was also significantly greater on sand than on waste rock ($p < 0.001$), whether or not there was RCW mulch. The same pattern was observed with the *Pilosella ceaspitosa* cover; this species largely contributed to the total weed cover throughout the monitoring period. However, none of the factors tested (“years”, “RCW mulch”, and “mineral substrate”) had a significant effect on *Tussilago farfara* cover. The species colonized the entire experimental setup regardless of the soil treatments during the monitoring period. In 2019, *Tussilago farfara* covered 3.8% ($\pm 0.1\%$) of the experimental setup. In 2021, it covered 10.5% ($\pm 0.2\%$), which corresponds to an increase of 176% in three years.

In 2020, on the quadrats of the experimental setup with the presence of *Tussilago farfara* (cover > 0), there were significantly more individuals of *A. balsamea*/m² on sand alone compared to plots with RCW mulch over sand ($p = 0.02$). Although there was no significant difference in the number of individuals of *A. balsamea*/m² on plots with RCW mulch over sand compared to plots with only sand ($p = 0.057$) when the *Tussilago farfara* cover was null (cover = 0), the number of individuals was twice higher on plots with RCW mulch, with an average of 10.1 individuals/m² (± 3.1), than on plots without mulch, with an average of 5.69 individuals/m² (± 0.9). In 2021, there was no

difference in the number of individuals/m² of *A. balsamea* between plots with RCW mulch and those without when *Tussilago farfara* was present ($p = 0.94$). In contrast, in quadrats where *Tussilago farfara* was not present, there were significantly more *A. balsamea* individuals/m² on plots with RCW mulch than those without mulch ($p < 0.001$), regardless of type of mineral substrate, with respective averages of 21.3 individuals/m² (± 4.75) and 3.95 individuals/m² (± 0.88).

The linear model reduced by stepwise selection revealed that the two environmental variables with the greatest effect on the number of individuals/m² of *A. balsamea*, regardless of the year, were: *Tussilago f.* cover ($p = 0.006$) and the number of days when $\Psi > 100$ kPa ($p = 0.017$).

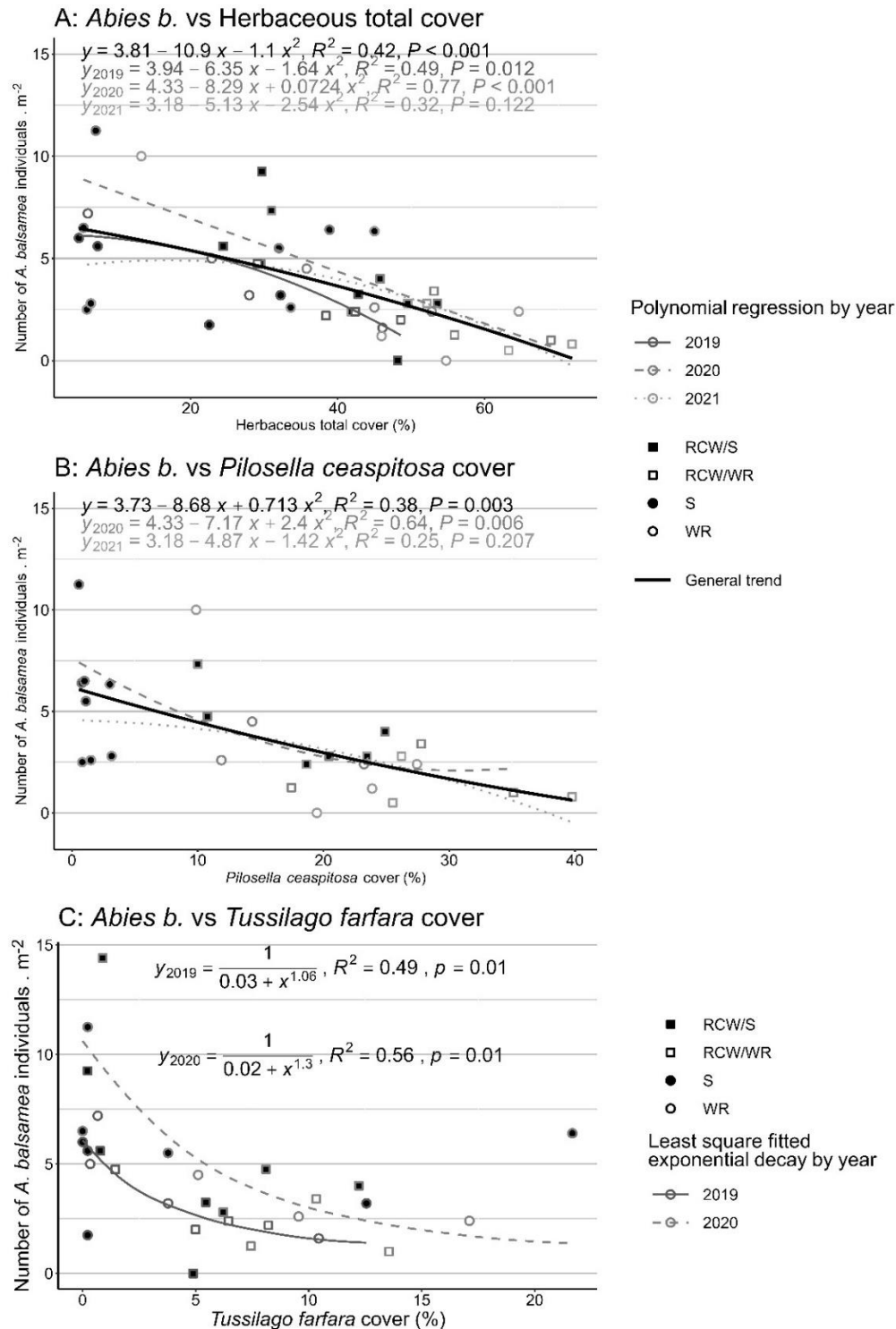


Figure 3.9 A. Linear relationships of the number of *A. balsamea* individuals/m² as a function of weed cover. B. Linear relationships of the number of *A. balsamea* individuals/m² as a function of *Pilosella ceaspitosa* cover. C. Least square fitted exponential decay curve by

year of the number of *A. balsamea* individuals/m² as a function of *Tussilago farfara* cover. Shared aspects across all figures: The relationship for each respective year is marked by a unique line style—a solid dark grey line for 2019, a dashed grey line for 2020, and a dotted light grey line for 2021. Symbols enclosed in circles represent the mineral substrate alone, while those enclosed in squares indicate the mineral substrate with RCW mulch. Filled symbols are used for sand as the mineral substrate, while hollow symbols represent waste rock as the mineral substrate. Shared elements in Figures A and B: The overall trend is represented by a curve, the equation of which is a second-degree polynomial.

3.5 Discussion

3.5.1 Spontaneous colonization of the experimental setup

Six woody species naturally colonized the experimental setup during the five years of monitoring, including pioneer genus like *Salix*, *Betula*, and *Populus* but also mid- and late-boreal forest successional genus like *Picea* and *Abies*, respectively. The comparison with the surrounding boreal forest highlighted that all mature woody species present in this surrounding succeeded in colonizing the experimental setup. The only exception was *Pinus banksiana*, which is known to disperse its seeds mainly after forest fires (Radeloff et al., 2004). *Salix sp.* was not present in the surrounding forest, but seeds were most likely transported from further locations by the wind. It has been reported that the median time for a mine site to reach 50% vegetation cover on the disturbed surface is 11 years; about forty years is required to observe a community composed of 50% woody species (Coradini et al., 2022). The establishment of a forest composed of a late-successional community usually takes hundreds of years (Chapin et al., 2002). The colonization of the experimental setup, and more particularly of the mineral substrates (sand and WR), by hardwood species was very low in comparison with the colonization by conifers. These results are in agreement with the results found by Del Moral and Jones (2002) concerning the early succession of a volcanic mineral substrate (Mount St Helens, USA), where among the woody species only conifers and willows had succeeded in colonizing the substrate during the first years after eruption, despite the presence of hardwood species close to the site.

In addition, it is important to emphasize the role of forest proximity in the success of natural colonization observed at our experimental site. Our results and the species diversity of tree seedlings colonizing barren rock are likely to be influenced by proximity to the adjacent forest.

Natural colonization by spontaneous succession is mainly possible within a few hundred metres of the forest edge, since the average seed dispersal distance of boreal forest trees rarely exceeds about 100 metres for conifers and about 400 m for hardwoods (Burns, 1990; Chen & Popadiouk, 2002). This proximity not only allows for a better chance of colonization by a diversity of species, but also highlights the importance of spatial planning in mine site ecosystem restoration, where the conservation of adjacent forest buffers can be crucial in facilitating natural regeneration and ecological succession on waste rock.

3.5.2 Early pioneering role of *Picea glauca* and the effect of RCW mulch on its growth

After five years of monitoring, it was observed that the presence of RCW mulch over the surface of a mineral substrate had an increasing effect on the number of individuals/m² and the aerial biomass of *P. glauca*, regardless of the mineral substrate. This partially validates our first hypothesis. *P. glauca* is a secondary companion species of the forest assemblage dominated by the *A. balsamea*–*B. papyrifera* association. It usually only makes up about 10% of the forest cover of this bioclimatic sub-domain (Lafontaine & Payette, 2012). However, *P. glauca* is also a typical pioneer species in the colonization of mineral substrates during the primary succession in post-glacial and boreal habitats (Payette & Fillion, 1985). The study of chronosequences of primary succession in northern Quebec, at the Hudson Bay, made it possible to find a link between the establishment of this species and the formation of podzols, the typical soil of boreal forests (Laliberté & Payette, 2008). *P. glauca* is a stress-tolerant species and can be found in all successional series of a primary succession in the boreal bioclimatic domain (Walker et al., 1986). This species can colonize substrates despite low humidity, low light, and strong competition (Walker et al., 1986). Concerning humidity and competition, our results indeed suggest that *P. glauca* is a ubiquitous early successional species for waste rock substrate. Unlike the work of McConkey et al. (2012), who did not observe any effect of mulch on the growth of *P. glauca* individuals, here the biomass of *P. glauca* was positively affected by the RCW mulch. The difference in the results between the work of McConkey et al. (2012) and our study could be explained by the thickness, or the type of mulch chosen. The authors of the earlier study spread a mulch of conifer chips to a thickness of 10 cm (McConkey et al., 2012).

On waste rock, the higher K^+ concentration observed in our study in 2018 had a positive effect on the number of *P. glauca* individuals. This result agrees with the work of Quesnel and Côté (2009), which suggests that *P. glauca* requires higher concentrations of certain nutrients in the soil (P, K, and Ca) for its growth than other boreal coniferous species (Quesnel & Cote, 2009). Some authors have even demonstrated that K was the main limiting factor in the growth of *P. glauca* in commercial plantations in Quebec, Canada (Phu & Gagnon, 1975). Since K^+ concentrations in the substrates were not significantly affected by RCW mulch in our study, our third hypothesis was not validated and the mechanisms underlying the positive effect of the RCW mulch on *P. glauca* colonization and aerial biomass remain unclear.

3.5.3 Effect of RCW mulch and environmental factors on *A. balsamea* colonization and growth

The population of *A. balsamea* was sensitive to the volumetric water content of the soil and to the duration of water stress during the growing period (number of days where suction > 100 kPa). *A. balsamea* is a shade-tolerant species that becomes dominant in late-successional boreal mixedwood forest (Bakuzis, 1965; Frank, 1990). It mainly needs to germinate on a seedbed with humid conditions and low competition with herbaceous species, as light is not a determining factor in the germination of the species (Bakuzis, 1965; Frank, 1990). Despite a tendency of higher mean volumetric water content in RCW plots, the RCW mulch did not significantly increase the colonization of *A. balsamea* in the experimental setup. Thus, our second hypothesis was not verified. Moreover, contrary to our fourth hypothesis, RCW mulch increased herbaceous plant cover and possible associated competition. This unexpected effect could have contributed to decrease the success of RCW mulch in increasing the soil VWC and the colonization of woody species sensitive to weed competition. In particular, *T. farfara* cover overshadowed the possible positive effect of the RCW mulch treatment on the colonization of *A. balsamea*, which was not a priori an expected result. Some authors have demonstrated that the presence of moose in certain areas of Gros Morne Park in Newfoundland reduced competition for light in the forest understory through excessive browsing, leading to a proliferation of weed species, in particular *T. farfara* (Gosse et al., 2011; Hendrickson et al., 2005). The proliferation of this species partly explained the reduced germination of *A. balsamea* in the understory (Gosse et al., 2011; Hendrickson et al., 2005). In addition, several authors have demonstrated that *T. farfara* largely participates in the

reduction of the specific and functional diversity of the disturbed habitats that it colonizes (Kompala-Bąba et al., 2020).

3.6 Conclusion

This study found that several woody species succeeded in colonizing the waste rock substrate after five years, and that this colonization was similar to or greater than that on a natural sand substrate. The application of ramial chipped wood mulch had a positive effect on the colonization and growth of a few boreal tree species on waste rock substrates, in particular the conifer species *Picea glauca*. These results suggest that the use of willow RCW mulch could be effective for the restoration of conifer forest ecosystems on waste rock, potentially reducing the time needed for primary succession to occur. However, it is important to note that this study only reflects the short-term effects of RCW mulch in a limited study area and further research should be conducted at the longer time scale. Additionally, our study highlights the potential influence of weed species like *T. farfara* on the colonization of late successional species like *A. balsamea* and the importance of controlling their presence in restoration efforts. It should be noted that in this study the application of the RCW mulch contributed to increase total herbaceous plant cover (but not that of *T. farfara*) and their possible competition towards forest trees. Overall, this study contributes to the improvement of passive restoration practices and adds to our understanding of the mechanisms of early primary succession in the boreal forest following anthropogenic disturbance.

3.7 Acknowledgements

We acknowledge the financial support from MITACS, Agnico Eagle Mines Limited, IRME UQAT-Polytechnique, the Centre d'Étude de la Forêt (CEF) and Natural Resources Canada, as well as the laboratory facilities of URSTM at UQAT. We are grateful to our research team, colleagues, participants, and supporters for their valuable contributions. We thank J. Jamieson-Hanes for English editing of the manuscript.

CHAPITRE 4 ORGANIC MATTER ADDITIONS FOR IMPROVED REVEGETATION OF ARSENIC-RICH WASTE ROCK WITH PLANTED BOREAL CONIFERS: A THREE-YEAR IN SITU MONITORING STUDY

Simon Taurines^{1,2}, Marie Guittonny¹, Armand Séguin²

¹Institut de Recherche en Mines et Environnement, Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue

²Centre de Foresterie des Laurentides, Ressources Naturelles Canada

Submitted January 16, 2024, and published May 30, 2024, in *New Forests* (2024), Springer Nature
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-024-10055-9>

Contributions: S.T., M.G., and A.S. designed the experiment and obtained funding. S.T. achieved data curation, formal analysis, investigation, validation, visualization, and wrote the original draft of the article. M.G. administrated and supervised the project. All authors reviewed and edited the manuscript.

4.1 Abstract

Mining waste creates challenging soil conditions that hinder tree establishment for boreal forest restoration. This study investigated the effects of adding topsoil or ramial chipped wood (RCW) on the physicochemical properties of waste rock and the growth and survival of planted native tree species. A randomized-block setup with four replications of four treatments was established on a gold mine site in western Quebec, Canada in 2018, and planted with *Pinus banksiana* and *Abies balsamea*. Results demonstrated that topsoil addition significantly improved height and diameter growth, aerial and root biomasses, survival, and nutrient uptake (N, P, and S) in conifer seedlings. Concomitantly, water content increased, pH lowered and nutrient concentrations increased in the substrate with a topsoil layer. However, multivariate analysis revealed that these improved soil conditions alone did not determine the survival and growth of conifer seedlings. In contrast, the

application of RCW-based treatments had no discernible impact on the growth and survival of the planted trees. Additionally, topsoil amendment effectively reduced the concentration of potentially phytotoxic elements in soil and needles, particularly arsenic. The total arsenic concentration in the mineral substrate (84.1 to 507 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) emerged as a growth-limiting factor for both conifer species. The total concentration of arsenic in the waste rock correlated positively with arsenic accumulation in the tree needles, indicating potential root uptake of this element. This study emphasizes the significance of addressing arsenic availability during reclamation efforts at mine sites. Nonetheless, further research is required to determine the phytotoxic thresholds of arsenic on conifers and its potential metabolic effects.

Keywords: ramial chipped wood, topsoil, mine waste afforestation, *Pinus banksiana*, *Abies balsamea*, arsenic phytotoxicity.

4.2 Introduction

The mining industry generates a large quantity of mining waste, including waste rock, which refers to the non-ore or rocky mineral material that is removed during mining operations (Bian et al., 2012). The rehabilitation of mine sites is essential to allow the reestablishment of the forest ecosystem and the recovery of the original ecological services and biodiversity (Bussière & Guittonny, 2020; Macdonald et al., 2015; Tongway & Ludwig, 2011b). However, there has been limited research specifically targeting the reforestation of waste rock in the boreal context (Babi et al., 2018; Bouchard et al., 2018; Larchevêque et al., 2015).

Efforts to rehabilitate waste rock can be limited by soil conditions that constrain the establishment of trees (Bouchard et al., 2018; Macdonald et al., 2015; Tongway & Ludwig, 2011b). Among these conditions, the absence of organic matter often implies a low availability of micro and macro nutrients for plants, a low water retention capacity of the soil, and significant temperature variations during the period of plant growth (Bradshaw, 1992; Lal, 2001; Lal, 2020; Macdonald et al., 2015). Adding organic matter to waste rock can thus help afforestation.

In addition, the mobility of certain potentially phytotoxic elements contained in waste rock, especially arsenic, can reduce the chances of survival and growth of planted trees (Bradshaw, 1992; Macdonald et al., 2015), and has implications for the food chain in the ecosystem (Peralta-Videa et al., 2009). Recent research has pointed towards the complex role that organic matter plays in the

mobility of arsenic in mine wastes (Coudert et al., 2020; Wang & Mulligan, 2009). The presence of organic matter has been found to promote arsenic mobilization under certain conditions.

Conifer species in the boreal forest are not all equally sensitive to poor soils with low organic matter and fast drainage like waste rock. Some species, such as jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.), are pioneer species that can survive and grow on mainly mineral substrates, despite low water retention conditions (Chrosciewicz, 1974, 1990; Weber et al., 1987). Other late-successional boreal conifers, such as balsam fir (*Abies balsamea* (L.) Mill.), are shade-tolerant and can survive and grow in forest conditions with high canopy cover (Asselin et al., 2001; Bergeron, 2000; Chen & Popadiouk, 2002). This canopy cover often implies a soil rich in organic matter and high water retention favorable to the development of these species (Gómez-Aparicio, 2009; Keenan & Kimmins, 1993; Wessman et al., 1988).

Several restoration approaches are possible on mine waste rock, including revegetation using an ameliorative approach (Bussière & Guittonny, 2020; Huebner et al., 2022; Prach et al., 2001; Prach & Hobbs, 2008; Singh et al., 2002). The ameliorative approach in a boreal forest context can consist of planting trees of native species combined with improving the substrate using organic matter, such as ramial chipped wood (RCW) or topsoil, as an amendment, mulch, or surface layer (Bussière & Guittonny, 2020; Gastauer et al., 2018; Larcheveque et al., 2013; Maiti et al., 2021; Taurines, 2019; Taurines et al., 2024).

Topsoil is a material that is sometimes available from borrow pits near mine sites in the boreal region or conserved after on-site excavations associated with mining works. Topsoil is the fertile portion of the soil profile containing organic matter, which, when mixed with a mineral substrate, can create favorable conditions for pedogenesis and lead to the formation of a soil (Brevik & Lazari, 2014; Hugron et al., 2011). The addition of topsoil is a common approach to mine site reclamation, during the revegetation phase (Anderson et al., 2008; Barton et al., 2008; Boldt-Burisch & Naeth, 2017; Bussière & Guittonny, 2020; Charnock & Grant, 2005; Drozdowski et al., 2012; Gagnon et al., 2021; Kneller et al., 2018; Larcheveque et al., 2013). However, the cost of this material is often too high to restore all the waste rock accumulation areas at large-scale mine sites. Moreover, this approach often involves borrowing soils from other ecosystems, which can lead to their disturbance.

Ramial chipped wood is a by-product of pruning cuts and is available at lower cost. RCW is a fresh or slightly decomposed organic material (Lemieux et al., 2000). RCW is used in agricultural and horticultural work, but very little mention has been found in the scientific literature for the revegetation of mine sites (Barthès et al., 2010; Germain & Eng, 2007; Lemieux et al., 2000; Taurines, 2019; Taurines et al., 2024). The use of RCW mulch as an alternative approach to topsoil during mine ecological restoration has shown promise in facilitating the natural colonization of plants (Taurines et al., 2024). However, its use for planting forest species directly in waste rock has not yet been tested. It is also unclear whether RCW should be mixed with the first cm of mineral substrate to facilitate the formation of an organic horizon and promote pedological processes, or whether it should be mulched on the surface of mineral substrates (Fortin Faubert et al., 2021; Lemieux et al., 2000; Soumare et al., 2004).

The main objective of this four-year study was to investigate the effects of an organic matter supply in the form of topsoil or RCW (as mulch or directly mixed with waste rock) on in situ survival and growth (height, diameter, and biomass) of *A. balsamea* and *P. banksiana* seedlings planted on waste rock, while determining the physicochemical conditions of the substrate that contributed to their growth and survival.

Three main hypotheses were formulated:

H1: the supply of organic matter on waste rock increases the growth in diameter, height, and biomass, as well as the survival of seedlings of *A. balsamea* and *P. banksiana*, as compared to waste rock alone;

H2: the supply of organic matter on waste rock improves the microclimatic conditions (volumetric water content and temperature) of the soil as compared to waste rock alone; and

H3: the addition of organic matter to waste rock improves the chemical conditions (availability of nutrients, reduction of phytotoxicity risks) of the soil as compared to waste rock alone.

4.3 Materials and methods

4.3.1 Study area

The study was conducted on a mine site, located in Abitibi-Témiscamingue, Quebec, Canada (Figure 4.1). The mine site was an underground gold mine that overlapped the Cadillac-Larder Lake fault zone. The mine site closed in 2018. The bioclimatic domain of the site is boreal

mixedwood forest; more specifically, it is located in the balsam fir–white birch forest ecosystem (Québec, 2019). Climate records from 1981 to 2010 indicate an average annual temperature of 1°C, with average annual minimum and maximum values of –5°C and 7.1°C, respectively; this data was collected from the weather station closest to the site, at Mont-Brun, less than 40 km from the mine site. The mean monthly maximum and minimum values are –24.3°C in January and 23.2°C in July. The average annual precipitation is 707.7 mm of rain and 281.2 cm of snow (Québec, 2010a).

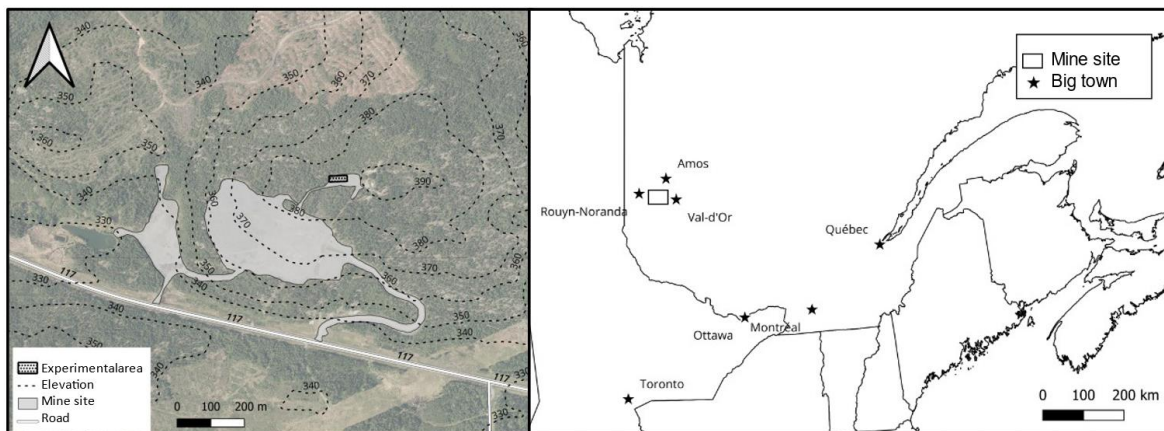


Figure 4.1 On the left, the site map shows the position of the experimental setup, its proximity to the forest adjacent to the site, and the elevation. On the right, a rectangle indicates the approximate position of the mine site in the province of Quebec.

4.3.2 Experimental setup

4.3.2.1 Setup construction

The experimental setup was installed on August 22nd, 2018, on a waste rock deposit at an elevation of 393 m. The setup used a fully randomized block design with four blocks (replications). Each block included four cells measuring 5 m by 5 m, separated by a 1 m interval. Each cell included one of the four treatment types. The position of the treatments in each block was determined randomly (Figure 4.2).

The treatments were as follows:

- WR: waste rock from the mine site, spread without slope;
- RCW/WR: fresh ramial chipped wood deposited as mulch to a thickness of 2 cm above the waste rock;

- RCW×WR: fresh ramial chipped wood deposited as mulch to a thickness of 2 cm above the waste rock, then mixed with the waste rock using the crenellated edge of an excavator bucket manipulated by a mechanical shovel over 15 to 20 cm deep in the mineral material; and
- TS: topsoil from an excavation company close to the site, deposited on the surface of the waste rock to a thickness of 10 cm.

The RCW was composed of 100% freshly cut trembling aspen (*Populus tremuloides*) twigs (chips varying in length between 2 and 4 cm; supplied by Émondage Abitibi Inc. ©); it was stored for less than a week before use.

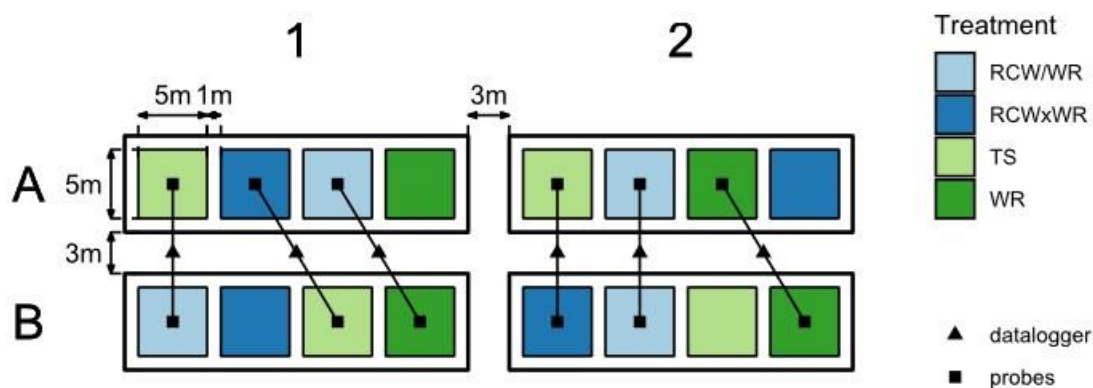


Figure 4.2 Experimental setup with the four blocks (A1, A2, B1, and B2) containing the four treatments (RCW/WR, RCW×WR, TS, and WR). The position of the volumetric water content and temperature probes is represented by squares and the position of the dataloggers connected to probes is represented by triangles. The spacing between the blocks was 3 m and the spacing of the cells within the blocks was 1 m. The cells measured 5 m square. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil.

4.3.2.2 Material characterization

The materials were characterized by various methods. The particle size distribution of the waste rock was determined using a Malvern Mastersizer 3000 laser diffraction analyzer for the $< 80 \mu\text{m}$ fraction and a mechanical sieving device for the $\geq 80 \mu\text{m}$ fraction (ASTM, 2007, 2022).

Table 4.1 Granulometric distribution of the waste rock. D_x corresponds to the mesh size of the sieve at which $x\%$ of the particles pass. The uniformity and curvature coefficients are

$$\text{calculated as follows: } C_U = \frac{D_{60}}{D_{10}} \text{ and } C_C = \frac{D_{30}^2}{D_{10} \times D_{60}}.$$

D_x	Particule size (mm)
D_{10}	0.315
D_{20}	2.5
D_{30}	5
D_{40}	10
D_{50}	14
D_{60}	20
D_{70}	28
Coefficients	-
Uniformity (C_U)	63.49
Curvature (C_C)	3.97

Based on the GSD (grain-sized distribution) parameters, the waste rock in the study area was considered “poorly graded gravel” (ASTM, 2020) (Table 4.1).

The in situ bulk density of the materials was determined for each cell. A cylindrical soil sample with a diameter of 25 cm and a depth of 15 cm was extracted and the edges and bottom of the resulting hole were lined with a hydrophobic textile (Campbell, 1994). The volume of the soil sample was calculated by measuring the amount of water required to fill the hole. The soil sample was then oven-dried at 60°C for 48 hours and its dry mass was recorded. The in situ bulk density was obtained by dividing the dry mass of the soil sample by its in situ volume (Table 4.2).

Table 4.2 Average bulk density of each treatment type ($n = 4$). The standard error (S.E.) is indicated in parentheses.

Treatment	Average bulk density (S.E.)
RCW/WR	1.81 (0.21)
RCW×WR	1.74 (0.08)
TS	0.61 (0.2)
WR	1.89 (0.12)

The soil water retention curve of the waste rock (alone or mixed with RCW) was obtained by fitting the Brooks and Corey equation to the measured data from a column experiment (Chapuis et al., 2007). A 70 cm-high column measuring 30 cm in diameter, containing waste rock placed at the average bulk density measured in situ, was used to determine the gravimetric water content (w) measurements following a water suction gradient (elevation) in the soil.

4.3.3 Conifer seedlings

4.3.3.1 Planting of seedlings

The choice of planted conifer species was made according to the plant composition of the bioclimatic subdomain of the study area. Since the area is in the balsam fir–white birch forest, two species of conifers belonging to different stages of succession were planted: *P. banksiana* Lamb. and *A. balsamea* (L.) Miller.

Seedlings were purchased in June 2018 and stored in an open warehouse until September 5th, 2018, the date of the planting. According to the survival of seedlings in the warehouse, the number of planted seedlings of each species was 12 per cell for *A. balsamea* and 26 for *P. banksiana*. The seedlings came from the Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs of Quebec (MFFP) nurseries (*P. banksiana* from Trécesson, QC, Canada and *A. balsamea* from the Abitibi-Témiscamingue Forestry Association). In each cell, the seedlings were divided into four groups (two groups of each species) and were randomly arranged in four uniform squares with randomly selected positions.

Each seedling was planted with an inter-individual spacing of 1 m, ensuring appropriate space for growth and development.

4.3.3.2 Survival

After the first growing season (in 2019), a seedling was considered dead if its needles were no longer green or if no needles were left. However, if there were still green needles present, the seedling was considered alive. The number of live seedlings was counted at the end of each summer from 2018 to 2021 (mid-August, from planting to after the third growing season).

The study measured survival in two different ways for all planted seedlings. The first method (4.1) calculated survival difference ($\Delta_{Survival}$) by taking the difference between the number of seedlings observed in the previous year (N_{Y-1}) and the number observed in the current year (N_Y).

$$\Delta_{Survival} = N_{Y-1} - N_Y \quad (4.1)$$

The second method (4.2) calculated survival rate ($R_{Survival}$) by dividing the number of seedlings observed in the current year by the number observed in the previous year.

$$R_{Survival} = \frac{N_Y}{N_{Y-1}} \quad (4.2)$$

4.3.3.3 Aerial growth

Aerial growth was measured annually for all planted seedlings. The measurements always took place at the end of the summer from 2018 to 2021 (mid-August, from planting to after the third growing season). The initial measurements occurred in 2018, just after planting. Annual aerial growth was determined with two measurements on the living seedlings:

- Height from the base to stem apex, folding all the branches towards the top of the seedling to find its apical point (highest point of the seedling). This measurement was collected using a flexible measuring tape.
- Diameter at the base of the soil. This measurement was collected using a caliper.

4.3.3.4 Biomass

The total, aerial, and root biomasses were measured after three growing seasons by gently excavating with gardening shovels three randomly chosen seedlings per cell, in the last year of monitoring the experimental setup (2021). Only seedlings of *P. banksiana* were excavated because the survival of *A. balsamea* did not provide an adequate representation of the species in each cell of the setup.

Seedlings were first cut at the base of the stem and identified. Then, an excavation of the root system was carried out to recover all the roots, including the finest. The root samples were identified and associated with the corresponding aerial sample from each seedling.

The plant material was brought back to the laboratory where it was washed with tap water, then placed in an oven at 60°C for 64 hours to eliminate any residual water. A verification of the drying was carried out by ensuring that the mass no longer changed after 60 hours. The mass of the different samples (root and aerial) was measured with a Mettler PM4800 DeltaRange © scale and an average whole seedling mass per cell was calculated (4.3, 4.4, 4.5).

$$m_a = \frac{m_{T_a}}{i} \quad (4.3)$$

$$m_r = \frac{m_{T_r}}{i} \quad (4.4)$$

$$m_i = \frac{m_{T_r} + m_{T_a}}{i} \quad (4.5)$$

Where m_a is the average seedling aerial mass in a cell, m_r is the average seedling root mass in a cell, m_i is the average whole seedling mass in a cell, m_{T_r} is the total mass of roots of the excavated seedlings, m_{T_a} is the total mass of aerial part of the excavated seedlings and i is the number of excavated seedlings in the cell.

4.3.3.5 Chemical composition of needles

In 2020, needles of the two species of conifers were collected from three randomly selected live seedlings in each cell. Needles from the three seedlings in a single cell were then combined to form a composite sample. Since there were a total of 16 cells in the experimental area and two species,

this resulted in a total of 32 composite needle samples. After being cleaned, the samples were placed in an oven at 60°C to dry for 48 hours, until they no longer lost weight.

Samples were sent to the Lakehead University Forest Resources & Soils Testing Laboratory for analysis of total nitrogen (total N) and trace metal (Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, S, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Ti, Tl, V, and Zn) concentrations in the needles. The method of analysis for total nitrogen was combustion combined with a nitrogen analyzer. The analytical method for trace metals was microwave assisted acid digestion followed by metal determination using inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES) (U.S.EPA, 2007).

4.3.4 Environmental variables

4.3.4.1 Soil volumetric water content and temperature

The soil volumetric water content and the soil temperature were measured hourly from 2019 to 2021 (Figure 4.2).

Two types of probes were used (Figure 4.3):

- 5TM (Meter Environment ©), which measured the volumetric water content and the temperature at a depth of 10 cm below the surface of the waste rock. The accuracy of these probes was $\pm 2\%$ after calibration and the temperature measurement ranged from -40 to $+60^{\circ}\text{C}$, with an accuracy of $\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- EC-5 (Meter Environment ©), which measured only the volumetric water content at a depth of 25 cm below the surface of the waste rock. The precision of these probes was $\pm 2\%$ after calibration.

Since the probes were not buried in topsoil or RCW, we calibrated them for waste rock used in this study (waste rock alone and waste rock mixed with RCW), in the laboratory.

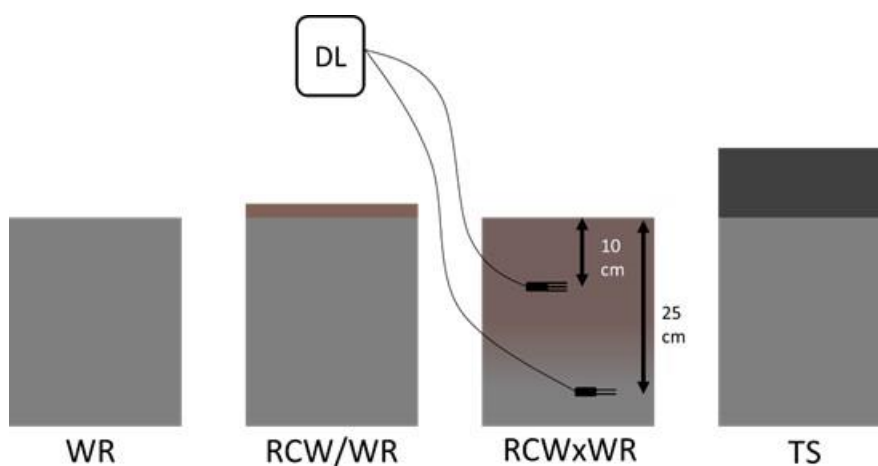


Figure 4.3 Position of the probes in the soil. The 5TM (Meter Environment ©) probes, which measured volumetric water content and temperature, were located 10 cm below the surface of the mineral substrate, while the ECH₂O-EC5 (Meter Environment ©) probes, which measured the volumetric water content only, were located 25 cm below the surface. DL: data logger; WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil

4.3.4.2 Chemical analysis

Substrate samples were collected in September 2020 and sent to the Lakehead University laboratory for chemical analysis. The samples included bulk samples of topsoil and RCW mulch, and a sample of waste rock underlying each of the four treatments in each experimental cell (16 waste rock samples). The analyses carried out were as follows:

- electrical conductivity (1:1, H₂O:soil) with a conductivity meter;
- total nitrogen concentration by combustion with a nitrogen analyzer;
- total organic carbon concentration by combustion with a carbon analyzer;
- pH in saturated paste; and
- trace metals (Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Se, Si, Sr, Ti, Tl, V, and Zn) with microwave assisted acid digestion followed by metal determination using ICP-AES (U.S.EPA, 2007).

4.3.4.3 Colonizing plant cover

In 2021, during the dismantling of the experimental setup, the total and specific cover of spontaneously colonizing plants were measured by the method of point interceptions along a transect arranged diagonally on each cell. The measurement points were distributed every 5 cm along the transect. To facilitate the recognition of the plant species present, the *Pl@ntNet*© application was sometimes used (Bonnet et al., 2015). Total plant cover (C_T) corresponded to the quotient of the sum of the interception points (n_{T_s}) over the total number of measurement points (n_T) on the transect (4.6). Specific cover (C_s) corresponded to the quotient of the sum of interception points for a given species (n_s) over the total number of measurement points (n_T) on the transect (4.7).

$$C_T = \frac{n_{T_s}}{n_T} \quad (4.6)$$

$$C_s = \frac{n_s}{n_T} \quad (4.7)$$

4.3.5 Statistical analysis

The statistical analyses were conducted with the R language in the RStudio development environment (R, 2023). The significance level for the analyses was $\alpha = 0.05$.

When the assumptions were met (normality of residuals and homoscedasticity), a repeated custom analysis of variance was performed on the conifer variables (response variables) and environmental variables (explanatory variables), followed by a post-hoc test with Tukey's correction (Rupert Jr, 2012) to test treatment effect. The treatment effect was tested for each species independently. When the assumptions were not met, a non-parametric Kruskal-Wallis test was performed (Hollander et al., 2013), followed by a non-parametric Dunn's multiple comparison test using Benjamini-Yekutieli adjustment (Benjamini & Yekutieli, 2001; Dunn, 1961, 1964). Tables summarizing the analysis results are available in the supplementary material (ANNEXE G).

Multivariable linear regressions were also modeled to determine by stepwise selection the model that best explained the response of the seedlings, based on the Akaike criterion (AICc) of the different models and by analyzing all the models, from the full model to the null model (Sakamoto et al., 1986). The full model was composed of all the variables identified in the scientific literature

as being able to influence the response variable, while considering the collinearity of these explanatory variables. To determine the collinearity of the variables, the variance inflation factor (VIF) was calculated for the full model, in addition to the correlation coefficient between the explanatory variables (Salmerón et al., 2018). A VIF less than 2 was considered acceptable for the variables included in the full model. When a variable had a VIF greater than 2, variables with a correlation coefficient greater than ± 0.5 were eliminated from the model (Fox & Monette, 1992). Finally, the collinearity was checked graphically by principal component analysis (PCA) and using scatterplot to ensure the linearity of the variables and that the correlation coefficient was not fortuitous (De Marco & Nobrega, 2018).

The *tidyverse* metapackage was used for the data cleaning, transformation, and visualization steps, as well as the functional programming steps (Wickham et al., 2019). The *multcomp*, *emmeans*, *lmerTest*, *lme4*, and *rstatix* packages were used for all statistical testing analysis steps (Bates et al., 2015; Hothorn et al., 2008; Kassambara, 2023; Kuznetsova et al., 2017; Lenth et al., 2023). The stepwise selection was carried out with the *step()* function of the *stats* package, with a bidirectional search (*direction* = "both") (Venables & Ripley, 2002). The VIF was calculated using the *vif()* function of the *car* package (Fox & Weisberg, 2018). The PCA and the correlations were carried out respectively using the *prcomp()* function and the *cor()* function, both from the *stats* package (R, 2023).

4.4 Results

4.4.1 Seedling responses

4.4.1.1 Seedling survival

The number of dead seedlings from year to year ($\Delta_{Survival}$) and the interannual survival rate ($R_{Survival}$) were significantly different between treatments only for *A. balsamea*. In 2021, the TS treatment showed a significantly lower $\Delta_{Survival}$ and a significantly higher $R_{Survival}$ for this species than the RCW×WR treatment (Table 4.3).

Table 4.3 Mean survival indices calculated in 2021 among treatments for *Abies balsamea*.

$\Delta_{Survival}$: number of dead seedlings from year to year; $R_{Survival}$: interannual survival rate; WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The letters represent the results of the post-hoc test performed. Treatments that share the same letter do not differ significantly. The standard error is indicated in parentheses.

	TS	RCW×WR	RCW/WR	WR
$\Delta_{Survival}$	1.5 (0.29) a	6.5 (1.66) b	4.75 (1.38) ab	2.5 (0.65) ab
$R_{Survival}$ (%)	83.6 (3.38) b	30.9 (14.93) a	44.9 (8.21) ab	70.5 (8.67) ab

4.4.1.2 Seedling height and basal diameter

At planting in 2018, the average height of *A. balsamea* on the site was 21.5 cm (SE = 0.3) and their average diameter was 4.3 mm (SE = 0.01). The height and diameter of *A. balsamea* began to significantly differ among treatments from 2020 onwards (Figure 4.4). In 2020 and 2021, the TS treatment exhibited *A. balsamea* with a significantly larger diameter than the other three treatments. The TS and WR treatments had seedlings with a significantly greater height than the RCW×WR treatment in 2020. Then, in 2021, the TS treatment had a significantly greater height of *A. balsamea* than the other three treatments. The average diameter of *A. balsamea* in 2021 was 10.6 mm (SE = 0.7) for the TS treatment, which was about twice that of the other treatments: 4.8 mm (SE = 0.4) for RCW×WR, 5.1 mm (SE = 0.4) for RCW/WR, and 5.4 mm (SE = 0.3) for WR. The average height of *A. balsamea* in 2021 was also greater for the TS treatment, with 37.8 cm (SE = 1.9), as compared to 24.1 cm (SE = 1.6) for RCW×WR, 23.9 cm (SE = 1.4) for RCW/WR, and 27.5 cm (SE = 1.0) for WR.

The average height of *P. banksiana* at planting in 2018 was 23.5 cm (SE = 0.2), and their average diameter was 4.4 mm (SE = 0.04). *P. banksiana* seedlings exhibited a significantly greater diameter on the TS treatment than on the other three treatments from 2019 until 2021. They had a

significantly greater height on the TS treatment than on the RCW×WR and WR treatments in 2019; in 2020 and 2021, the height of *P. banksiana* on the TS treatment was greater than on all three other treatments. The average diameter of *P. banksiana* in 2021 was 21.2 mm (SE = 0.3) for the TS treatment, three times greater than the average diameter of 7.1 mm (SE = 0.2) for RCW×WR, 6.6 mm (SE = 0.2) for RCW/WR, and 7.5 mm (SE = 0.2) for WR. The average height of *P. banksiana* in 2021 was 77.1 cm (SE = 2.0) for the TS treatment, 37.7 cm (SE = 0.9) for the RCW×WR treatment, 38.4 cm (SE = 0.8) for the RCW/WR treatment, and 39.6 cm (SE = 0.8) for the WR treatment.

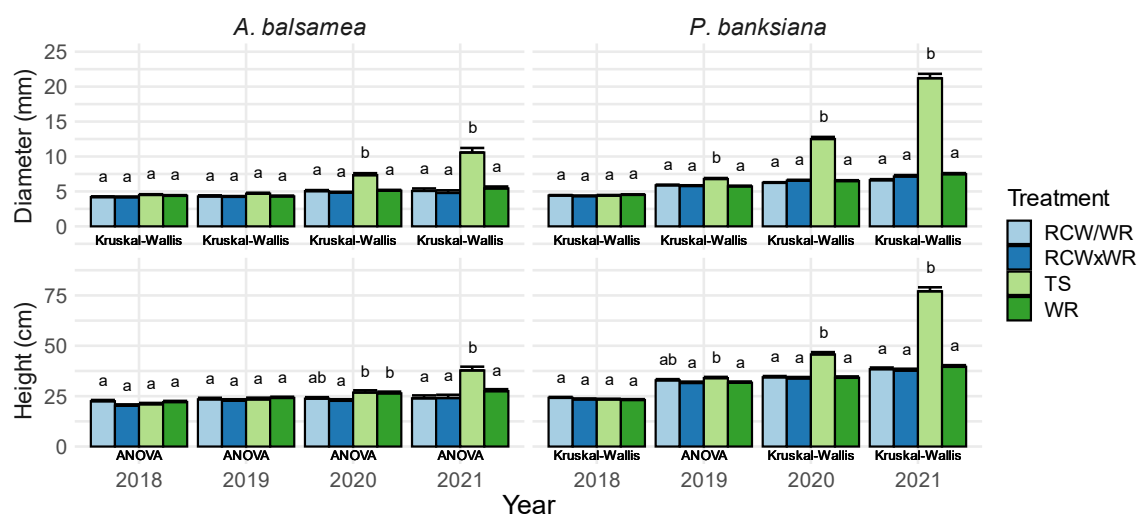


Figure 4.4 Annual mean height (in cm) and basal diameter (in mm) of *A. balsamea* and *P. banksiana* planted seedlings among treatments. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The letters represent the results of the post-hoc test performed. Treatments that share the same letter do not differ significantly. The statistical comparison test is indicated under each barplot. Error bars represent standard error.

4.4.1.3 *P. banksiana* biomass

After excavation of *P. banksiana* seedlings in 2021, at the conclusion of three growing seasons, the aerial, root and whole seedling biomasses were found to all be significantly greater on the TS treatment than on the three other treatments. The average excavated seedling biomass was 300.82 g (SE = 43.8) on the TS treatment, more than 10 times greater than that on the other treatments:

20.53 g (SE = 2.59) on RCW×WR, 24.72 g (SE = 1.65) on RCW/WR, and 26.6 g (SE = 2.81) on WR.

4.4.1.4 Chemical composition of needles

For both planted species, the concentrations of total K, P, S, and N (essential elements that make up proteins) were significantly higher in the seedlings growing on the TS treatment than on the other treatments (Figure 4.5.A).

For *P. banksiana*, the concentrations of potentially phytotoxic elements in the needles, such as Cr or As, were generally lower in the plants growing on the TS treatment than on the other treatments (not significant for As, partly significant for Cr) (Figure 4.5.B). Nickel concentrations were not significantly different among the treatments. The variance of concentrations on each treatment was too large for the statistical comparison analysis to detect a possible significant difference among the treatments. Average As concentrations in the needles ranged from 2.25 to 6.43 µg/g for *A. balsamea* and from 3.73 to 17.4 µg/g for *P. banksiana*.

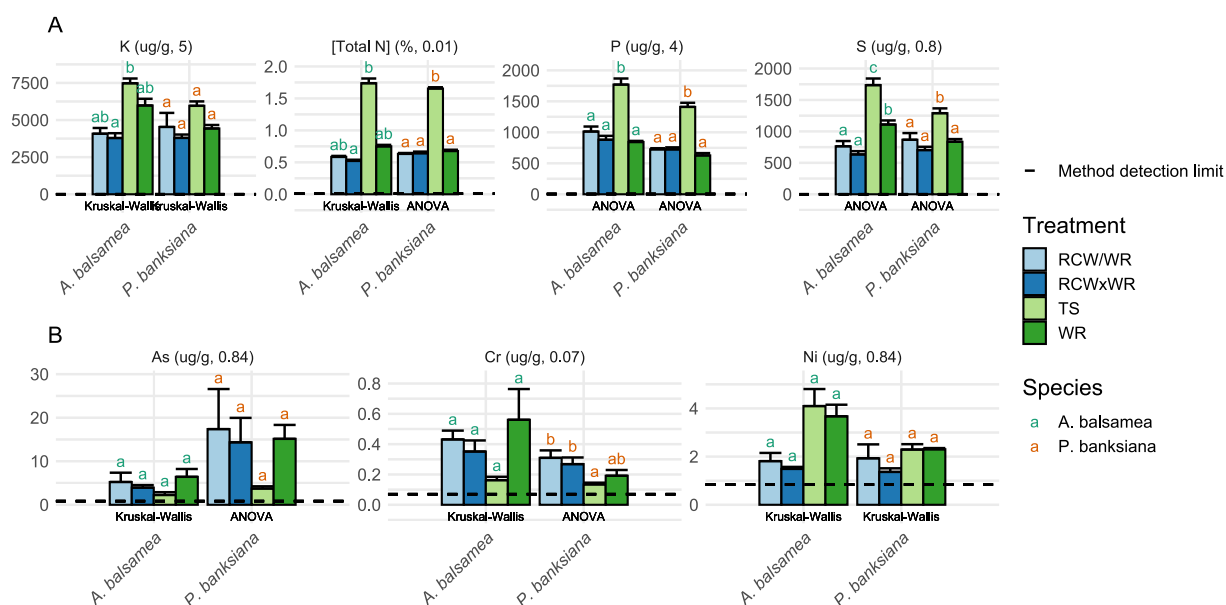


Figure 4.5 Mean element concentrations in the needles of *A. balsamea* and *P. banksiana* seedlings in 2020, compared among treatments. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The barplots in A present the concentrations of essential elements (macronutrients), while the barplots in B present the

concentrations of potentially phytotoxic elements. The name of the element is indicated above the barplot. The units are specified in parentheses, as well as the method detection limit (MDL). The MDL is also represented by a dashed line. The statistical comparison test is indicated under each barplot. The letters are the results of the post-hoc test, in blue for *A. balsamea* and in red for *P. banksiana*. Treatments that share the same letter do not differ significantly. Error bars represent standard error.

4.4.2 Environmental variables

4.4.2.1 Microclimatic variables

4.4.2.1.1 Water content

The average volumetric water content measured at a depth of 10 cm in the waste rock was significantly different among treatments from 2019 to 2021 (Figure 4.6). In 2019, the average volumetric water content was significantly higher in the TS treatment than in the RCW/WR treatment. In 2020, the TS treatment had a significantly higher average volumetric water content than the other three treatments. In 2021, the average volumetric water content was significantly higher in the TS treatment than in the RCW/WR and WR treatments.

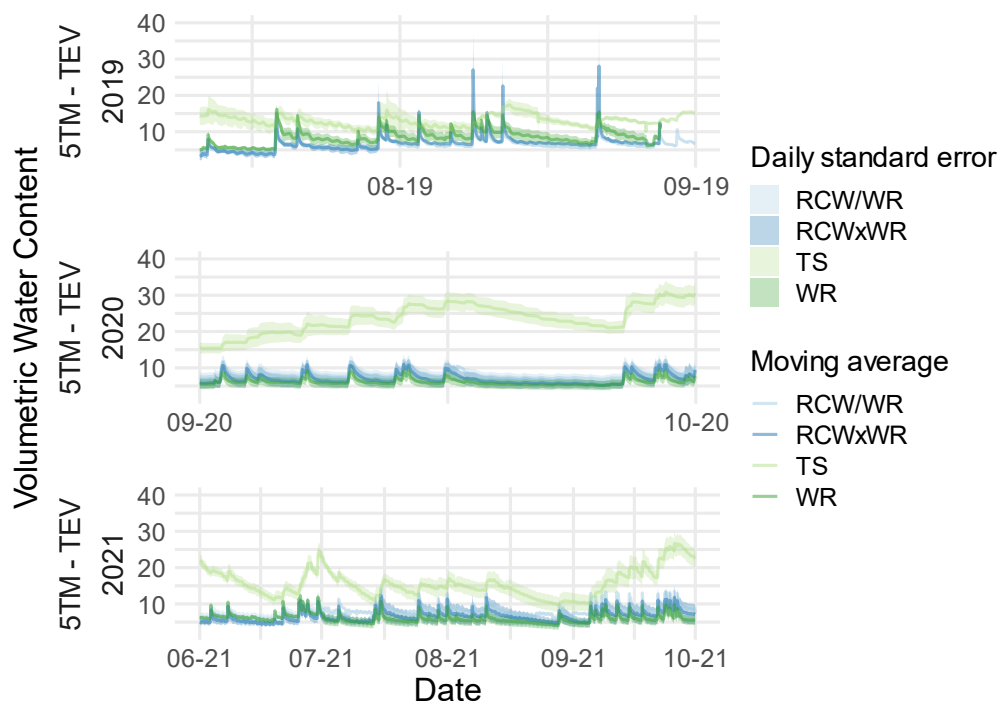


Figure 4.6 Volumetric water content at a depth of 10 cm in the waste rock substrate for each treatment, measured during the growing season in 2019, 2020, and 2021. The periods correspond to those where all the measurements were of sufficient quality. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil.

Water retention curve results are presented in the supplementary material (ANNEXE G). The number of days when the suction exceeded 100 kPa during the periods of volumetric water content measurement at a 10 cm depth were significantly different among the treatments in 2019 and 2021. In general, the TS treatment had the fewest number of days when the soil suction at a 10 cm depth was above 100 kPa.

The volumetric water content was not significantly different among the treatments at a depth of 25 cm. Average volumetric water contents at this depth in the waste rock during the measurement period (June to late September) were 12% (SE = 1.64) in 2019, 14.1% (SE = 2.37) in 2020, and 12.7% (SE = 2.83) in 2021.

4.4.2.1.2 Temperature

The mean temperature variation (difference between daily maximum and minimum temperature) at a 10 cm depth in the soil was significantly different among treatments in 2021. The difference between the daily maximum and minimum temperature was significantly lower on the TS treatment than on the other treatments in 2021 ($p < .05$). The average daily temperature differences were 7.73°C (SE = 0.08) on WR, 6.97°C (SE = 0.68) on RCW/WR, 7.02°C (SE = 0.04) on RCW×WR, and 4.38°C (SE = 0.89) on TS.

4.4.2.2 Chemical composition of mineral substrate

4.4.2.2.1 Nutrients

The total concentration of nitrogen in the waste rock substrate was significantly higher in the TS treatment than in the other treatments. The topsoil layer contained 1.2% total N on average. The total concentration of phosphorus was significantly higher in the TS treatment than in WR only. In contrast, the K concentration in the TS treatment was significantly lower as compared to the other treatments. The concentrations of potential micronutrients (Cu, Fe, Mn, Mo, and Zn) were not necessarily different among the treatments, with the exception of Fe, which was lower in the TS treatment than in the other treatments. The average concentrations of all these elements are presented in Table G.3 in the supplementary material (ANNEXE G).

4.4.2.2.2 Potentially phytotoxic elements

The pH of the waste rock substrate under the TS treatment was significantly lower (slightly acidic) than the other three treatments (neutral) (Figure 4.7), due to an acidic average pH of 4.5 in the topsoil layer.

The average total As concentrations in the waste rock substrates of all the treatments exceeded the regulatory thresholds (criterion C, for industrial land use) of Schedule 1 of the Land Protection and Rehabilitation Regulation (Quebec Environmental Quality Act Q-2, r.37). The average total Cr concentrations exceeded the residential regulatory thresholds (criterion B) in the waste rock substrates of the RCW/WR, RCW×WR, and WR treatments. The total Ni concentrations in the waste rock substrates of all the treatments also exceeded the residential regulatory thresholds (criterion B). Although not significant, the mean As, Cr, and Ni concentrations were lower in the TS treatment than the other three treatments. The topsoil layer showed total As concentrations (12

$\mu\text{g.g}^{-1}$ on average) below the B criterion for residential land use, but the average total Hg concentration reached 90 ng.g^{-1} , which is above the C criterion for industrial land use.

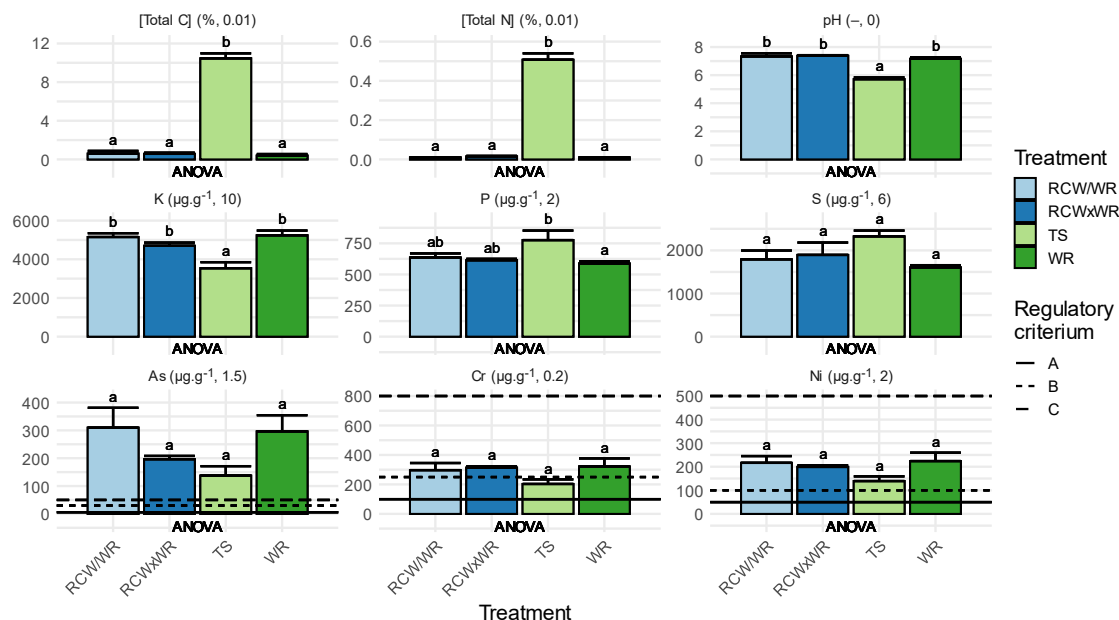


Figure 4.7 Average total element concentrations in the waste rock substrate of all treatments in 2020. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW $\times$ WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The units are specified in parentheses, as well as the method detection limit (MDL). The Quebec regulatory criteria (A, B, and C) are represented by the different type of lines (Quebec Environmental Quality Act Q-2, r.37). The statistical comparison test is indicated under each barplot. The letters are the results of the post-hoc test. Treatments that share the same letter do not differ significantly. Error bars represent standard error.

4.4.2.3 Colonizing plant cover

The total and specific cover of colonizing plants had no effect on seedling response. Only the TS treatment had a total cover greater than 1%, with an average value of 70.5% (SE = 4.84). No alien species were observed on any of the cells in the experimental setup (Colautti & MacIsaac, 2004). The species present on the TS treatment were *Agrostis* spp., *Anaphalis* spp., *Artemisia* spp., *Cirsium* spp., *Eutamia graminifolia*, *Iris foetidissima*, *Leucanthemum vulgare*, *Linaria* spp., *Potentilla norvegica*, *Rumex* spp., *Solidago canadensis*, *Solidago* spp., *Taraxacum* spp., *Trifolium*

repens, *Trifolium pratense*, and *Vicia sativa*. No woody species were observed among the colonizing plants in 2021, three years after the construction of the experimental setup.

4.4.3 Multivariate relationships

The microclimatic variables (volumetric water content, temperature, and number of days when the suction exceeded 100 kPa) of the substrate did not explain the dynamics of the response variables. On the other hand, after having observed several correlations between response variables and physicochemical variables of the substrate, the analysis using a multivariate linear regression model and a stepwise selection based on the Akaike criterion made it possible to determine the model comprising the explanatory variables that best explained the response of the plants.

The model that best explained the seedling responses (cumulative diameter of *A. balsamea* and average height of *P. banksiana*) contained only one explanatory variable: the total As concentration in the substrate. The bivariate linear relations of the modeled seedling responses are represented graphically in the form of scatterplot in Figure 4.8. The observed number of dead seedlings for *P. banksiana* was notably lower than for *A. balsamea*. Consequently, the selected response variable for *P. banksiana* was the mean height of its seedlings in 2020. For this species, height appeared to be more impacted by arsenic concentrations than diameter. For *A. balsamea*, the cumulative diameter—defined as the sum of diameters of living seedlings on each experimental cell—was chosen as the response variable. This approach effectively highlights the combined influence of both mortality and diameter in relation to arsenic soil concentrations in 2020.

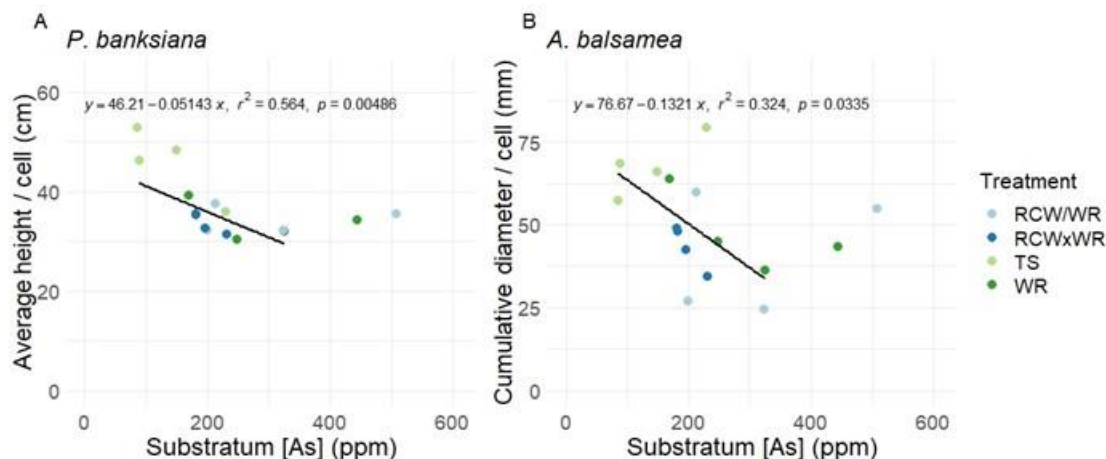


Figure 4.8 Responses of the two seedling species to the total arsenic concentrations of the waste rock substratum. A) Average height of *P. banksiana* seedlings as a linear function of the arsenic concentrations of the mineral substrate. B) Cumulative diameter of *A. balsamea* seedlings as a linear function of the arsenic concentrations of the mineral substrate. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil.

To illustrate that the total arsenic concentration in the substrate significantly influenced the morphological response of the seedlings, two scatterplots depict the relationship between the total arsenic concentration in the substrate and the arsenic concentration in the needles of coniferous seedlings (Figure 4.9). Linear regressions with coefficients of determination over 0.5, combined with visible linear patterns among the data points and a gradation of arsenic concentrations, reveal clear linear relationships between these soil and plant variables.

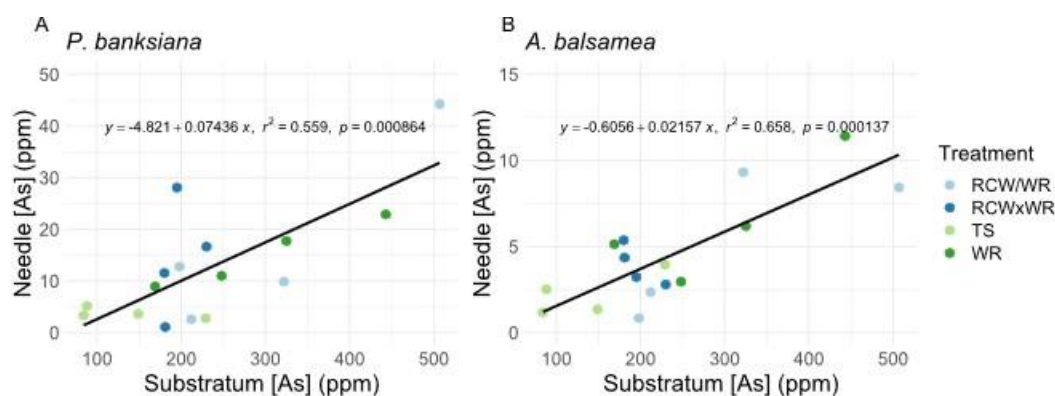


Figure 4.9 Arsenic concentration in the needles of *P. banksiana* (A) and *A. balsamea* (B) seedlings in 2020 as a linear function of the total arsenic concentration in the waste rock substrate. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil.

Finally, the total phosphorus and sulfur concentrations in the waste rock substrate showed negative correlations with the total arsenic concentration in the same substrate (Pearson correlations of -0.53 and -0.55 , with p-values of 0.04 and 0.03 , respectively). The concentrations of total P and S were also correlated with the arsenic concentrations in the needles of *A. balsamea* (Pearson correlations of -0.56 and -0.64 , with p-values of 0.03 and 0.01 , respectively). Additionally, a mild negative correlation was observed between the total phosphorus concentrations in the waste rock substrate and the arsenic concentration in the needles of *P. banksiana* (Pearson correlation of -0.5 and p-value of 0.048).

The biplot (Figure 4.10), which illustrates the associations among the principal correlated variables, effectively projects a point cloud that is based on a reduction of the two primary components derived from the PCA. This visual representation delineates the relationships between the chemical composition of the substrate and that of the needles from the two studied species. Notably, it underscores the impact of the total As concentration in the waste rock substrate on the corresponding As concentration in the plant needles. Arsenic concentrations appeared to be independent of treatment type, although the stepwise selected model previously showed that plants growing on the TS treatment seemed to accumulate less As than on the other treatments. The figure also shows that the TS treatment was characterized by greater accumulation of nutrients (N, P, K, S) in the needles of the seedlings.

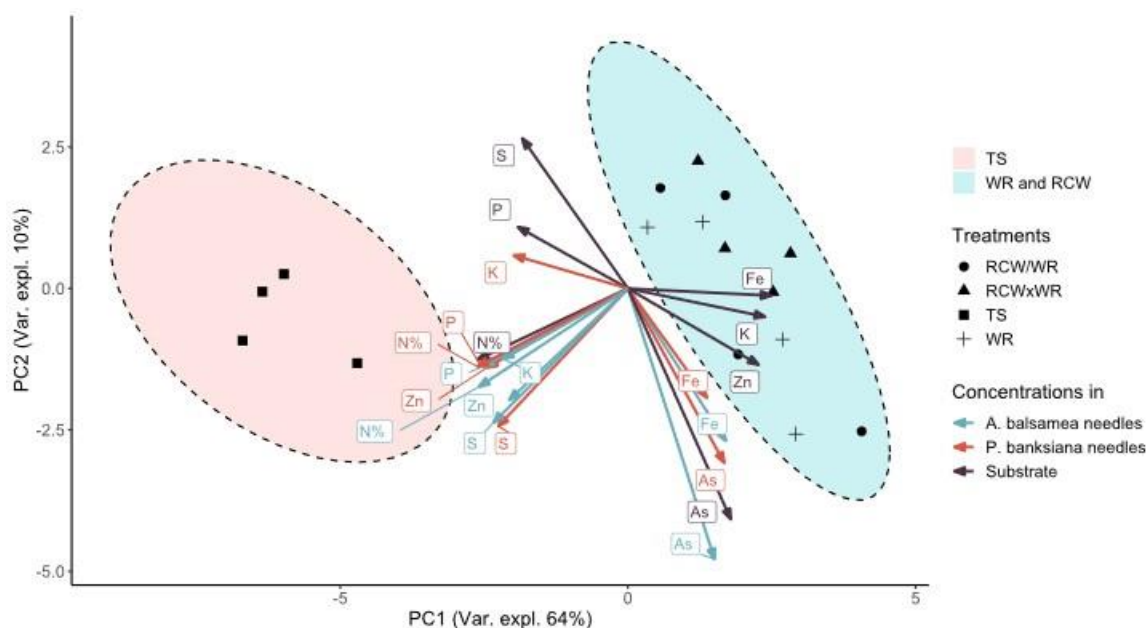


Figure 4.10 PCA biplot showing the relationships between chemical variables with the strongest relationships to each other (Pearson correlation $|R| > .5$). Correlations between the element concentrations of the needles of the two species were not considered to avoid biasing the interpretation of PCA. The ellipses represent the multivariate t-distributions of two groups (TS cells and other treatment cells). The arrows represent the correlation between element concentrations in each group (*A. balsamea* needles, *P. banksiana* needles, and waste rock substrate). Finally, treatments are represented by different shapes: RCW/WR by circles, RCW×WR by triangles, TS by squares, and WR by crosses. WR: waste rock; RCW/WR: RCW over waste rock; RCW×WR: RCW mixed with waste rock; TS: topsoil. The cumulative proportion of variance explained by the graphical representation of the first two components is 74.6% (PC1: 64.4%, PC2: 10.2%).

4.5 Discussion

4.5.1 Positive effect of topsoil layer on waste rock substrate and development of planted seedlings

In agreement with our first hypothesis, a significant supply of organic matter (10 cm-thick layer) in the form of topsoil promoted growth in aerial and root biomasses, diameter, and height, and the survival of *A. balsamea* and *P. banksiana* seedlings planted in waste rock. However, the RCW-

based treatments (mixed or mulch) affected neither the growth of the planted seedlings nor their survival, while the topsoil treatment had a considerable effect on these variables. As expected, *P. banksiana* suffered less than *A. balsamea* from the early successional conditions present at the experimental site, in terms of survival and growth (Asselin et al., 2001; Bergeron, 2000).

At the soil level, the TS treatment had greater water retention capacity, lower pH and total concentrations of potentially phytotoxic elements, and greater soil essential nutrient concentrations (except potassium). Our hypothesis concerning the improvement of the microclimatic and physical conditions of the mineral substrate by organic matter addition is supported by the results of the volumetric water content, the number of days when the matrix pressure was higher than 100 kPa, and the soil temperature at a depth of 10 cm. These findings could be attributed to the ability of organic matter to improve soil structure, thus increasing water-holding capacity, which can support plant growth and improve overall soil health (Libohova et al., 2018; Naeth et al., 1991). However, based on the multivariate analysis, improving these conditions was not a determining factor in the survival or growth in biomass, height, or diameter of conifer seedlings.

As expected, the total concentrations of elements that can constitute macronutrients in plants were higher when a supply of already decomposed organic matter was present over the waste rock, such as topsoil. Although total element concentrations are not necessarily a good indicator of the availability of nutrients in the soil, it was noted that the total concentrations of these macronutrients were linearly related to the concentrations found in the needles of the seedlings, except for K. Accordingly, the concentrations of essential elements such as P, K, S, and N were significantly higher in the needles of the planted seedlings in the topsoil treatment. This suggests that, in this case, the total concentration of essential elements found in the soil reflected the concentration bioavailable to plants. Interestingly, despite the lower concentrations of total K in the waste rock of the TS treatment, a higher concentration was observed in the seedling needles. This phenomenon could potentially be attributed to K not acting as a limiting factor within the context of this study (van der Ploeg et al., 1999). Furthermore, the concentration of K in the needle proteins may be influenced by the concentration of other constituent elements of these proteins, thus explaining the observed discrepancy.

Our results also revealed that the average pH in the TS treatment was around 5, compared to approximately 7.5 in the other treatment groups. The pH level in the TS treatment closely aligns

with the optimum soil acidity range for the growth of both *P. banksiana* and *A. balsamea*, as documented in existing research. A review pointed out that *A. balsamea* grows in cooler, wet-mesic sites with acidity between 5.1 and 6.0 (Frank, 1990). *P. banksiana* is adaptable to different soil conditions, including slightly acidic environments (Rudolph & Laidly, 1990). Therefore, the lower pH substrate provided by the TS treatment appeared more conducive for the growth of these species when compared to the other treatments with higher pH values.

RCW mulch did not improve soil conditions compared to waste rock alone (including microclimatic conditions). It would therefore appear that the RCW mulch did not provide a more favorable environment for seedling growth than the waste rock.

4.5.2 Arsenic in waste rock and accumulation in seedlings

The concentrations of potentially phytotoxic elements such as chromium or arsenic were generally lower in the plants growing on the TS treatment (even if not statistically significant for As). However, for Cr, the needle concentrations were far below the $5 \mu\text{g.g}^{-1}$ concentration reported to possibly induce phytotoxicity (Kabata-Pendias, 2010; Kabata-Pendias et al., 2017). The total arsenic concentrations were high in the waste rock, which constitutes the mineral growing substrate for the treatments. This is an important consideration as the mining industry increasingly exploits refractory ore deposits to extract gold, which often results in the release of a substantial proportion of arsenic (Coudert et al., 2020). Adding organic matter in the form of topsoil to the surface of the waste rock appeared to reduce the transfer of arsenic to planted seedling needles. The root volume growing in the 10 cm-thick topsoil was indeed not in direct contact with the As-bearing waste rock. Moreover, total As concentrations were lower in the waste rock under the topsoil. Recent research has shown that adding organic cover material in the form of peat with an acidic pH can decrease the concentration of arsenic in desulfurized gold mine tailings with neutral-alkaline pH by making it mobile and more leachable, especially in the form of As(III) (Rakotonimaro et al., 2021).

Total arsenic concentrations are generally not a good indicator of the availability of this element for plant uptake since it may be non-leachable and retained in gangue. However, the accumulation of As in the needles of the sampled seedlings that appeared proportional to the total As concentrations in the waste rock substrate suggests that, in this case, As was available for root uptake. In the supplementary material of a recent PhD thesis (Kalonji, 2020), the author reported averaged arsenic concentrations of 0.2 mg/L in leachates from a waste rock sample originating

from the same mine site. These results were obtained through column leaching tests, which suggests that arsenic may be released into the water upon contact with the waste rock (Kalonji, 2020). This finding could potentially explain the uptake of arsenic by *P. banksiana* observed in our own investigation, as the arsenic may have been leached into the water and subsequently absorbed by the plants. However, it was noted that in another experimental setup on the same site, the waste rock did not contain any detectable total As (Taurines et al., 2024).

In the scientific literature, arsenic concentrations in the needles of conifers of the genus *Pinus* grown on disturbed sites never exceeded 8 ppm on average (Juranović Cindrić et al., 2018; Popovic et al., 2022; Shin et al., 2019; J. Wang et al., 2022; Yu et al., 2020). In natural forests (including forests adjacent to disturbed sites), the concentrations in *Pinus* spp. never exceeded 1 ppm (Juranović Cindrić et al., 2018; Shin et al., 2019). Data from this non-exhaustive literature review are presented in the supplementary material (ANNEXE G). In our study, the highest average arsenic concentration found in the needles was 17.4 ppm (± 9.21) for *P. banksiana*. Arsenic concentrations were therefore high in the needles of the seedlings in our experiment.

4.5.3 Arsenic phytotoxicity

The accumulation of arsenic in *A. balsamea* and *P. banksiana* needles negatively impacted their growth in diameter and height, respectively. Few research studies have focused on the phytotoxicity thresholds of arsenic on conifers of the genus *Pinus* and it is difficult to determine the effect of the concentrations attained here on the metabolism of the genus (Juranović Cindrić et al., 2018). Moreover, very few studies present information on arsenic concentrations in needles for the genus *Abies*. According to our analysis of the variables that can explain the response of conifer seedlings (diameter of *A. balsamea* and height of *P. banksiana*), the growth-limiting factor seemed to be the presence of high arsenic concentrations in the waste rock.

In agreement with recent research on the bioavailability of arsenic in contaminated agricultural soils in India (Singh & Srivastava, 2020), the higher total P and S concentrations found in the waste rock of the TS treatment could be concomitant with a decrease in the bioavailability of arsenic for the plants. The authors of that study identified that an increase in the availability of phosphorus in the soil was correlated with a decrease in the bioavailability of arsenic, because phosphorus and arsenic compete for sorption sites in the soil (Singh & Srivastava, 2020). They also found that the

arsenic concentrations in the soil decreased with the sulfur concentrations. Sulfur and arsenic have similar and often interconnected biogeochemical cycles (Singh & Srivastava, 2020).

When conducting revegetation work in waste rock including soil improvement techniques with organic matter addition, it is recommended that the speciation of As and its available concentration to plants be considered. Topsoil application, especially if it contains available phosphorus, can effectively improve the physicochemical growing conditions for *P. banksiana* and *A. balsamea* on waste rock, potentially reducing certain phytotoxicity risks to some extent.

4.6 Conclusion

This study demonstrated that the addition of organic matter in the form of topsoil to coarse mineral substrates on mine sites can enhance the growth and survival of conifer seedlings such as *A. balsamea* and *P. banksiana*, resulting in improved access to water and nutrients from the substrate. However, mulched or mixed aspen RCW treatments had no effect on seedling growth after three years of follow-up. RCW also did not have a major impact on improving the physicochemical and microclimatic conditions of the substrate favorable to the growth of the two species. Moreover, the results suggested that high concentrations of arsenic in gold mine waste rock may be an important factor limiting the growth of conifer seedlings. Further research should be conducted to explore the potential of organic matter-based treatments and phosphorus fertilization for improving the revegetation of arsenic-bearing gold mine waste rock. The development of substrate quality indicators reflecting As availability to planted seedlings should also be investigated to anticipate a possible decrease of afforestation success for mine sites in the longer term.

4.7 Acknowledgements

We acknowledge the financial support from Mitacs, Agnico Eagle Mines Limited and the Research Institute on Mines and the Environment (RIME-UQAT-Polytechnique), the Centre d'Étude de la Forêt (CEF) and Natural Resources Canada, as well as the laboratory facilities at the Research Institute on Mines and the Environment (RIME-UQAT). We are grateful to our research team, colleagues, participants, and supporters for their valuable contributions. We thank J. Jamieson-Hanes for English editing of the manuscript.

CHAPITRE 5 PROMOTING SOIL BACTERIAL COMMUNITY DEVELOPMENT IN EARLY PRIMARY SUCCESSION ON WASTE ROCK BY MULCHING WITH RAMIAL CHIPPED WOOD, IN A BOREAL CONTEXT

Simon Taurines^{1,2}, Armand Séguin², Marie Guittonny¹

¹ Institut de Recherche en Mines et Environnement, Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue

² Centre de Foresterie des Laurentides, Ressources Naturelles Canada

Submitted May 7, 2024, in *Applied Soil Ecology*, Elsevier BV
DOI (preprint): <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4835459>

Contributions: S.T., M.G., and A.S. designed the experiment and obtained funding. S.T. achieved data curation, formal analysis, investigation, validation, visualization, and wrote the original draft of the article. M.G. administrated and supervised the project. All authors reviewed and edited the manuscript.

5.1 Abstract

The ecological restoration of mine waste rock corresponds to a context of primary succession, characterized by mineral substrates poor in organic matter and nutrients. The addition of organic matter, specifically in the form of ramial chipped wood (RCW) mulch, could facilitate the development of soil microbial communities crucial to ecosystem recovery on mineral substrates. This study examined the interaction between pioneer boreal tree species and soil microorganisms, exploring how a ramial chipped wood mulch influences the development of microbial and plant communities in primary succession on different mineral substrates: waste rock and sand. The methodology of this research used an experimental design of four complete randomized blocks on an area composed of waste rock at the Lapa Mine, Quebec. Treatments ($n = 4$) included two mineral substrates (scarified waste rock or sand) with or without the addition of RCW. The study focused on seedlings of two tree species: *Pinus banksiana* and *Betula papyrifera*. Microbial community development was analyzed by metabarcoding, focusing on the rhizosphere of tree seedlings and

bulk soil, five years after tree seedling establishment. After five years, RCW mulch boosted bacterial species richness and diversity, particularly around *Pinus banksiana* and on waste rock, although its effect on fungal diversity was less marked. RCW also favored the development of bacterial and fungal functional groups useful for plant growth. Microbial diversity was more influenced by the physicochemical properties of mineral substrates than by tree species, indicating a preponderant influence of the mineral substrate physicochemical properties during the very early microbial succession. RCW appeared to promote bacterial diversity beneficial to pioneer trees in disturbed boreal environments, offering practical guidance for the ecological restoration of such sites.

Keywords: mine microbiota, spontaneous succession, ecological restoration, jack pine, paper birch

5.2 Introduction

The ecological restoration of mine waste rock (WR) represents an environmental and ecological challenge (Bussière & Guittonny, 2020; Macdonald et al., 2015). After exploitation, mining sites leave bare and sometimes chemically altered substrates, creating harsh conditions for the natural reconstitution of ecosystems (Bradshaw, 1992; Bussière & Guittonny, 2020; Prach & Walker, 2020). Waste rock, devoid of organic matter and nutrients and often characterized by low water retention capacity, poses significant obstacles to the natural colonization of trees (Bussière & Guittonny, 2020; Macdonald et al., 2015; Prach & Hobbs, 2008; Walker & del Moral, 2009a). Moreover, the challenges of ecological restoration of waste rock are not limited to restoring a physicochemical environment conducive to the establishment of vegetation; it is also necessary to re-establish the soil microbial communities essential to ecosystem recovery (Anderson et al., 2008; Aschenbach & Poling, 2015; Banning et al., 2014; Chapin et al., 1994; Cross & Lambers, 2017; Kumari et al., 2022).

The scientific basis of successional theory suggests that ecological restoration can be achieved by minimizing human intervention and favoring a spontaneous successional approach, to promote regeneration closer to the original natural ecosystem and with greater specific richness (Charnock & Grant, 2005; Hugron et al., 2011; Porter et al., 2023; Prach et al., 2001; Prach & Hobbs, 2008). In this context, the application of passive ecological restoration approaches for highly disturbed environments such as mine waste rock offers a unique and instructive platform for observing and understanding the first stages of primary succession (Chapin et al., 1994; Walker & Del Moral,

2003, 2009a, 2011; Walker & Powell, 2001). Exploring these early series of biological colonization provides valuable insights into ecosystem resilience mechanisms and the dynamic interactions between different biotic and abiotic components.

The addition of organic matter in the form of mulch is often cited as beneficial for plant development and for the establishment of positive relationships between plants and the soil microbiome, including the early stages of primary succession (Borkenhagen & Cooper, 2019; Bucka et al., 2021; Caboň et al., 2021; Dallaire & Skousen, 2019; Lorenz et al., 2017; Taurines et al., 2024; Tian et al., 2022; Yarda et al., 2019). Although organic mulch improves soil physical and chemical properties, such as increasing organic matter content, improving water retention, and modulating soil temperature, its impact in the unique context of waste rock ecosystem restoration remains poorly explored (B. Liu et al., 2023; L. Luna et al., 2018; Lourdes Luna et al., 2018; Taurines, 2019; Taurines et al., 2024), especially regarding the development of soil microbial communities (Asmara et al., 2023). In these environments, organic mulch could play a crucial role in promoting the development of rich and diverse microbial communities, essential for plant nutrition, protection against pathogens, and the decomposition of organic matter (Stefani et al., 2023). Microbial communities establish ecological relationships with plant roots, facilitating nutrient uptake and strengthening plant resilience in often inhospitable conditions (Habiyaemye et al., 2020; Tedersoo et al., 2020; Van Der Heijden et al., 2008). Thus, the use of organic mulch in mine site reclamation could not only accelerate the colonization of vegetation and trees on the sites, but also establish a solid foundation for the development of a functional ecosystem (Stefani et al., 2023). The use of ramial chipped wood (RCW) mulch has potential benefits for stimulating soil microbial life by participating in the mobilization of nutrients in the soil through the decomposition of organic matter, thus promoting the rapid establishment of relationships between plants and their microbiome (Lemieux et al., 2000). However, formal proof of its impact in the specific context of restoring ecosystems on waste rock, particularly on the development of the soil microbial community, has never appeared explicitly in the scientific literature. In addition, it is important to consider that the addition of RCW could not only stimulate the development of a microbial community beneficial to the colonization of waste rock by forest trees, but this same improvement in soil conditions could favor weed species, which could compete with and potentially hinder tree establishment (Hodge & Fitter, 2013; Kuťáková et al., 2020; Li et al., 2023).

The influence of different early successional species, like the deciduous *Betula papyrifera* and the coniferous *Pinus banksiana*, is crucial to study in the ecological restoration of waste rock due to their distinct interactions with soil microorganisms (Angel et al., 2006; Aschenbach & Poling, 2015; Brunvatne, 1998; Chrosciewicz, 1990; Frerichs et al., 2017; Perala & Alm, 1990a; Raynal et al., 1982; Ringe & Graves, 1990; Roberts & Dong, 1993; Rudolph & Laidly, 1990; Ruel & Ayres, 1996; Salonen, 1992). Conifers and hardwoods have different symbioses with mycorrhizal fungi, which are essential for nutrient acquisition and plant survival in disturbed environments (Aucina et al., 2015; Lunt & Hedger, 2003; Yu et al., 2020). Conifers are often associated with ectomycorrhizal fungi (Aucina et al., 2015; Yu et al., 2020). Hardwoods, on the other hand, tend to establish relationships with arbuscular mycorrhizal fungi (Boldt-Burisch & Naeth, 2017; Cutler et al., 2014; Perala & Alm, 1990b). By studying these two types of pioneer trees, we can gain a deeper understanding of the mechanisms by which different plant species facilitate ecological restoration and primary succession of microorganisms.

In the literature on primary succession, comparisons between different types of mineral substrate, like sand and waste rock, are uncommon. Yet such comparisons can help identify concepts and phenomena that can be extrapolated between different types of mineral substrate (Chapin et al., 1994; Cutler et al., 2014). These mineral substrates differ significantly in terms of chemical composition, texture, microtopography, and pH, directly influencing the diversity of environmental conditions (Bouchard et al., 2018; Kalonji, 2020; Lima & Mendanha, 2019; Ludwig et al., 2003; Taurines et al., 2024; Tongway & Ludwig, 2011b). These differences between the properties of the two materials translate into distinct limiting factors for the development of microbial and plant communities (Bradshaw, 1997; Bradshaw, 1992; Keddy, 1992; Tordoff et al., 2000).

The aim of this research is to understand the impact of adding organic matter in the form of RCW mulch on soil microbial communities at the early stages (after five years) of the ecological restoration of mine waste rock compared to sand. The study also aims to explore the first stages of microbial primary succession in highly disturbed environments, and to study the establishment of relationships between two tree species and the soil microbiome. Two research hypotheses emerge:

H1: Adding organic matter in the form of RCW mulch to mineral substrates increases soil microbial richness, the microbial diversity associated with each tree species, and the relative abundance of

microbes' functions useful to tree seedling establishment, compared with mineral substrates alone, regardless of the type of mineral substrate.

H2: Microbial communities are less dissimilar between the compartments studied (rhizosphere of tree seedlings and bulk soil) and between tree species than between mineral substrate types, demonstrating that microbial community development within the rhizosphere is primarily affected by the mineral substrate, rather than the plant compartment and species.

5.3 Materials and Methods

5.3.1 Study site and experimental design

The research was undertaken at the Lapa mine site, a property of Agnico Eagle Mines Ltd., situated near Rivière-Héva in Abitibi-Témiscamingue, Quebec, Canada. This site, positioned at 48°13'44" N latitude and 78°17'00" W longitude, was operational from May 2009 until its closure in 2018. The extensive mine network boasted over 63 km of underground tunnels reaching depths of up to 1,350 m. Spanning an area of approximately 10 ha, the site earmarked for reclamation included during exploitation phases a waste rock pile, water treatment basins, access roads, parking areas, and spaces occupied by buildings and the headframe.

The research initiative commenced in the summer of 2016, focusing on a 30 m × 30 m waste rock deposit previously designated in 2009 for machinery maneuvering and temporary storage of blasting explosives. The waste rock consisted predominantly of schist (such as chlorite-biotite schist, chlorite-talc schist, and silicified schist), greywacke, and volcanic mafic rocks. Bordered by the neighboring forest, the research area was nestled within the boreal forest biome, typified by the western balsam fir-white birch domain (Québec, 2019). The region has a growing season spanning from mid-May to late October, with an average annual temperature of 1.5°C and an average yearly precipitation of 874.8 mm, encompassing 643.2 mm of rainfall and 236.7 cm of snowfall (Québec, 2010a). The region's altitude is approximately 310 m.

The experimental setup spanned approximately 500 m², structured around a random complete block design with four replicates. This meant a total of 16 experimental units, each block containing four plots (one for each treatment) (Figure 5.1). These blocks were oriented perpendicular to an east-west axis slope, roughly 3–4% in gradient. Prior to the establishment of the treatments, the waste rock surface was scarified to a depth of 5–10 cm using mechanical shoveling. Following this,

treatments were implemented in 25 m² square plots (5 m x 5 m), separated by a 2.5 m distance. Within each block, the arrangement of the four treatments was randomized.

The treatments were categorized as:

- scarified waste rock only (WR),
- 10 cm-thick sand layer over WR (S),
- 2 cm-thick ramial chipped wood (RCW) mulch layer over WR (RCW/WR), and
- 2 cm-thick RCW mulch layer over S (RCW/S).

The RCW, sourced from chipped willow branches (with a maximum diameter of 8 cm), was processed in southern Quebec and left to season outdoors for a year prior to its use in the study. The sand was procured from a borrow pit directly on the Lapa Mine site.

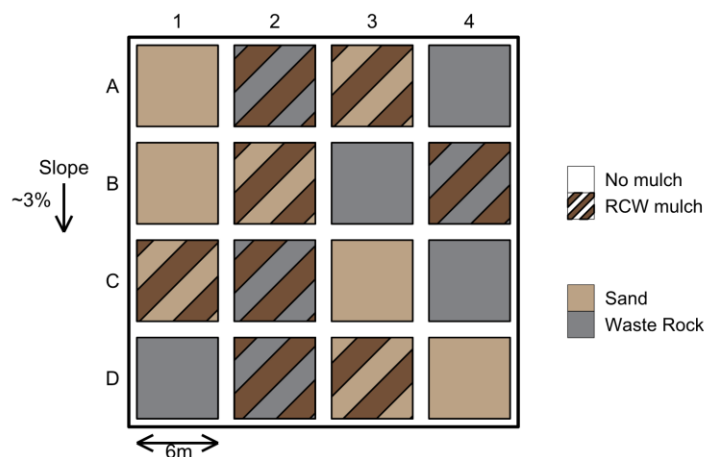


Figure 5.1: The experimental setup with a randomized complete block design. The beige squares represent plots with a sand substrate, the grey squares indicate plots with a barren rock substrate, and the hatched bars indicate the presence of RCW mulch on the surface of the mineral substrate.

5.3.2 Measurement of spontaneous colonization by herbaceous species

The evaluation of herbaceous plant colonization was executed through the application of the point intercept technique (Jonasson, 1988) upon designated quadrats. To quantify herbaceous coverage, a 1 m² frame was employed, encompassing nine cords extending from one extremity of the frame

to the opposing side. Along each cord, 10 equidistant points were demarcated, culminating in a total of 90 measurement points, evenly distributed at 10 cm intervals.

Herbaceous coverage was computed as follows (5.1):

$$C = \frac{Nc}{Nt} \times 100 \quad (5.1)$$

Where, C is the percentage of plant coverage, Nc is the count of measurement points where contact with a plant is established, and Nt is to the overall count of measurement points along the frame.

The quantification of specific contribution (SC) was executed using the subsequent formula (5.2):

$$SC_s = \frac{Nc_s}{\sum Nc_i} \quad (5.2)$$

Where, SC_s is the percentage of species-specific contribution, Nc_s is the count of measurement points where contact with a plant of the species is established, and $\sum Nc_i$ is the summation of Nc values for all species within the given quadrat. This computation furnishes a metric for discerning the comparative significance of each species in the herbaceous coverage, contingent upon the frequency of its appearance at the measurement points. The determination of plant families was performed for each quadrat. Identification of distinct families and species was accomplished utilizing the Laurentian Flora, a reference compendium facilitating the recognition of weed species in Quebec, Canada (Marie-Victorin, 1944). Additionally, the *Seek by iNaturalist* © mobile application (https://www.inaturalist.org/pages/seek_app), integrating a deep learning model capable of plant identification via photographs, was also harnessed for species identification (Unger et al., 2021).

5.3.3 Soil element concentration analysis

A comprehensive assessment of soil element concentrations was conducted in November 2020, incorporating both mineral materials and RCW samples. The analysis was undertaken by the Lakehead University Environmental Laboratory, formerly recognized as the Forest Resources & Soil Testing Laboratory.

The assessment encompassed the determination of electrical conductivities at a 1:2 dilution ratio with deionized water (DW), quantification of total nitrogen using the Elementar CHNS © combustion technique, evaluation of organic matter concentration through the muffle furnace

method, pH measurement in saturated paste, and a comprehensive appraisal of total elements and metal concentrations (specifically Ag, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Sn, Mg, Mn, Mo, Ni, Na, P, Pb, Se, and Zn). The quantification of these elements was achieved through acid digestion followed by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES), adhering rigorously to EPA 3051A guidelines (EPA, 2007).

This assessment involved characterizing the RCW mulch on top of the substrate and the substrate samples extracted from beneath the RCW mulch layer, located in the soil horizon from 0 to 10 cm depth. Each experimental plot of the installation was represented by a single sample of substrate and a single sample of mulch, obtained by gathering four samples taken randomly from each plot (four samples of RCW and four samples of mineral substrate). Since there were two plots per block with RCW, two plots per block with sand, and two plots per block with WR, there were eight samples of RCW, eight of sand, and eight of WR, for a total of 24 samples.

The chemical analysis of the bulk soil following its collection—as described in the following section—were carried out by the same laboratory at Lakehead University, using the same methodological approach and standardized protocols.

5.3.4 Plant species selection

Two primary succession species, *Pinus banksiana* Lamb. (Jack Pine) and *Betula papyrifera* Marshall (Paper Birch), were chosen based on the composition of the adjacent forest. Both species possess a predisposition to pioneer in challenging environments like mine sites. *P. banksiana* specimens were sown in 2017 and was 3–4 years old in 2021. On the other hand, the *B. papyrifera* specimens observed in the study resulted from natural colonization between 2016 and 2021, highlighting their intrinsic capacity to spontaneously establish in such areas without human intervention.

5.3.5 Sample collection

5.3.5.1 Procedure for bulk soil and root sampling at each spot

The samples of two randomly chosen individuals per species (one duplicate per species) and per plot were collected in October 2021. A total of 64 individuals were collected. Initial steps involved the careful removal of surface litter and organic horizon (1–2 cm). This preliminary process

ensured a clean sampling area and prevented potential contamination of samples with decomposing organic matter.

To gather the bulk soil and roots, a hand transplanter was used, collecting soil 10–15 cm below the surface (or beneath the mulch layer, when applicable). The digging depth was chosen to ensure that both the rhizosphere and bulk soil were adequately represented, capturing a comprehensive sample of the root–soil interactions. The taproot of individuals of *P. banksiana* and *B. papyrifera* did not go deeper than 10–15 cm. The hand transplanter was disinfected with 70% ethanol between each sample. Bulk soil corresponds to the soil under the litter, with no apparent organic matter and close to the plant (taken within a radius of less than 20 cm from the main stem).

The aerial parts were kept separate to reduce the risk of sample contamination by microorganisms present in the phyllosphere. The aerial parts were dried in a dry oven at 60°C for 48 h and the aerial biomass was measured.

5.3.5.2 Soil and roots storage and transport

After excavation, bulk soil and roots of the individuals (with rhizosphere) were promptly placed into sterile containers to minimize contamination and degradation. Ensuring the samples retained their native state, they were transported to the laboratory in coolers filled with ice packs. This method maintained a consistent sample temperature. Once they reached the laboratory, the samples were stored between –20 and –80°C until further processing.

5.3.5.3 Preparation of bulk soil and rhizosphere for analysis

At the laboratory, the roots were delicately shaken to dislodge loosely adhered soil. Both the roots and the tightly attached soil, representing the rhizosphere, were then placed in a 50 mL plastic tube already containing 25 mL of PBST (phosphate buffered saline Tween 20, pH 7.2) (White et al., 2015). An inversion shaking (10 times) of the tube ensured soil removal from the roots, after which the tubes were kept on ice. Bulk soil was sieved using a 2 mm mesh, ensuring no roots passed through. The sieved soil was then transferred to a plastic bag. A 0.25 g portion of this sieved soil was shifted to a PowerBead tube from the DNeasy PowerSoil Pro Kit (Qiagen), and another 2 mL tube was filled with the same soil as a duplicate. These samples were stored on ice until they could be frozen between –20°C and –80°C.

5.3.5.4 Rhizosphere soil collection

The 50 mL tubes containing roots and rhizosphere soil underwent centrifugation at 4,500 g for 10 minutes at 4°C. Clean forceps were employed to remove the roots from these tubes. The 50 mL tubes holding rhizosphere soil were centrifuged for 20 minutes at 4,500 g and 4°C. The supernatant was discarded, leaving behind the rhizosphere soil pellet. After mixing with a sterilized spatula, the soil was transferred to a small Whatman paper filter to absorb residual PBST. Like the bulk soil, 0.25 g of this rhizosphere soil was placed in a PowerBead tube from the DNeasy PowerSoil Pro Kit, with the remainder transferred to a 2 mL tube and frozen at –20°C for less than a week, then at –80°C.

5.3.6 DNA isolation and quantification

For DNA extraction of both bulk soil and rhizosphere soil samples, the procedure was carried out in strict adherence to the manufacturer's directives, with the singular modification being the elution volume. Rather than the standard 100 µL, the DNA was eluted in a 50 µL volume. After isolation, the DNA was quantified to ensure optimal concentrations for further applications. Quantification was conducted employing the Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, United States) in tandem with a Qubit Fluorometer 2.0 (Life Technologies, Burlington, ON, Canada).

5.3.7 Sequencing

Primer sets employed for targeted amplification of microbial genetic material were:

- the primer pairs 515F-Y (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') and 926R (5'-CCGYCAATTYMTTTRAGTTT-3'), utilized to amplify the V4-V5 regions of the 16S ribosomal RNA gene associated with bacteria and archaea (Parada et al., 2016), and
- the primer pairs ITS9 (5'-GAACGCAGCRAAIIGYGA-3') (Menkis et al., 2012) and ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') for targeting the ITS2 region of fungi (Rivers, 2016; White et al., 1990).

Library preparation suitable for Illumina sequencing was executed employing the primers, following the prescribed procedures of the manufacturer (Illumina, 2011, 2013).

The formulation of amplicon PCR reactions consisted of a mixture containing 25 μL of HotStarTaq Plus Master Mix (QIAGEN, Inc., Germantown, MD, United States), 19 μL of RNase-free water, 0.5 μL of each 10 μM primer, and 5 μL of genomic DNA (gDNA) normalized to a concentration of 5 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$. Thermal cycling conditions, executed using a Thermal Cycler (C1000 Touch Thermal Cycler, BIO-RAD), comprised initial denaturation at 95°C for 5 min, followed by denaturation at 95°C for 45 s, annealing at 50°C for 45 s (with 35 cycles for 16S primers and 40 cycles for ITS2 primers), extension at 72°C for 1 min, and a final elongation step at 72°C for 10 min.

Following amplicon generation, purification was carried out utilizing a magnetic beads solution (81 μL /sample; Agencourt AMPure XP). Subsequently, distinctive indices were incorporated into individual samples through the application of the Nextera XT Index Kit v2, following the protocol outlined by Illumina (2013). After index PCR, a further purification step using magnetic beads (56 μL /sample) was performed. The concentration of the resulting PCR products was determined using the Synergy™ Mx Microplate Reader (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, United States) and the samples were then pooled at equimolar concentrations. Paired-end sequencing, involving 2×300 bp read lengths, was conducted on an Illumina MiSeq platform accessible at the Illumina Sequencing Platform, Nucleic Acids Solutions, Aquatic and Crop Resource Development, National Research Council Canada (Saskatoon, SK, Canada).

5.3.8 Bioinformatic analysis

Metabarcoding sequence analysis was conducted using QIIME 2 (Bolyen et al., 2019). The sequences were ingested using the “Casava 1.8 paired-end demultiplexed fastq” procedure, resulting in QIIME2 artifacts. Demultiplexing and quality filtering were achieved via the “q2-demux” plugin; subsequently, noise reduction was accomplished using the DADA2 approach, employing the “qiime dada2 denoise-paired” command (Callahan et al., 2016). The forward reads of the first 19 bases and the reverse reads of the first 20 bases were trimmed to eliminate potential primer contamination and low-quality sequence regions. Additionally, the forward and reverse reads were truncated at positions 288 and 256, respectively. The ASVs were taxonomically classified using the naïve Bayes technique (Bokulich et al., 2018), utilizing the SILVA 138 databases (Yilmaz et al., 2014) for 16S and the UNITE 8.2 database (Abarenkov et al., 2010) for ITS. The classifier databases compatible with Qiime2 were sourced from Qiime2 data repositories. Subsequently, a taxonomy-based refinement was executed to eliminate sequences corresponding

to unintended amplifications like chloroplasts, mitochondria, and sequences unidentifiable at the kingdom classification.

After removing taxa determined to be contaminants, species of low abundance were also removed (relative abundance < 0.001%). The data were standardized using the ‘presence/absence’ format using the *decostand()* function in the *vegan* package (Oksanen et al., 2022). Rare species (which were frequent in fewer than three samples) were also removed.

5.3.9 Statistical analysis

5.3.9.1 Alpha diversity comparisons analysis

Three parameters were calculated to measure the alpha diversity and richness of bacterial and fungal communities: observed ASV, Shannon's entropy H' index (5.3), and Simpson's D index (5.4) (Morris et al., 2014; Shannon, 1948; Simpson, 1949).

$$H' = - \sum P_i \ln(P_i) \quad (5.3)$$

$$D = 1 - \sum P_i^2 \quad (5.4)$$

where P_i is the proportion of individuals belonging to species i .

For each alpha diversity parameter, a linear mixed model on categorical variables only was fitted with the parameter value as the dependent variable, using the *lmerTest* R package (Kuznetsova et al., 2017). The model included the factors ‘mulch’ (presence or absence of RCW mulch), ‘mineral’ (sand or WR), ‘comp’ (rhizosphere or bulk soil), and ‘species’ (*P. banksiana* or *B. papyrifera*), and the interactions between them. In addition, a random effect was incorporated into the model to account for the blocking variable, corresponding to the block structure of the experimental design. Following model fitting, several tests were performed. First, a type III ANOVA test assessed the significance of factors and their interactions (Langsrud, 2003). The Shapiro-Wilk test was used to check the normality of residuals and Levene's test examined the homoscedasticity of residuals of the model (O'Neill & Mathews, 2002; Yazici & Yolacan, 2007). To meet the normality and homoscedasticity requirements for parametric analyses, various transformations were performed on the dependent variable: square root transformation, logarithmic transformation (using the natural logarithm, with an addition correction of 1 to handle zero values), squaring, and Box-Cox transformation (Gurka et al., 2006; Legendre & Legendre, 2012). Only parametric analyses were

carried out, given that no parametric models were rejected based on the assumptions concerning the homoscedasticity and normality of residuals. Marginal mean estimates (MMEs) for main effects and interactions were calculated using the *emmeans* R package to conduct a post hoc analysis (Gałęcki et al., 2013; Lenth et al., 2019). The p-values were corrected with a Tukey adjustment (Benjamini & Braun, 2002; Tukey, 1977).

5.3.9.2 Beta diversity analysis

The imputation of zeros in the compositional count was carried out based on the Bayesian geometric multiplicative replacement method, using the *cmultRepl()* function from the *zCompositions* package (Palarea-Albaladejo & Martín-Fernández, 2015; Palarea-Albaladejo & Martín-Fernández, 2023). A centred log-ratio transformation matrix was then generated using the *codaSeq.clr()* function from the *CoDaSeq* package applied to the dataset (<https://github.com/ggloor/CoDaSeq>) (Gloor et al., 2017). The use of Aitchison's distance was preferentially chosen for the analysis of dissimilarity between microbial communities because it takes into account the compositional nature of data obtained by high-throughput sequencing, where the arbitrary total imposed by the instrument creates a constraint that affects the analysis (Gloor et al., 2017). By fitting the data to a log-ratio transformation, the Aitchison distance enables a fairer and more meaningful comparison between samples, avoiding distortions caused by the closure effect and more accurately reflecting true biological dissimilarities between microbial communities (Gloor et al., 2017). The *aDist()* function in the *robCompositions* package was used to calculate the Aitchison distance within the distance matrix obtained previously (Filzmoser et al., 2018; Templ et al., 2023). A PERMANOVA on the Aitchison distance matrix with 999 permutations was performed to determine which factors had a significant effect on the variation in distance using the *adonis2()* function from the *vegan* package (Oksanen et al., 2022). Where at least two factors had a significant interaction, an independent analysis was conducted for each factor, nesting them independently to understand the specific effect of each factor. A post hoc pairwise analysis on the PERMANOVA results with 999 permutations was conducted using the *pairwise.adonis()* function from the *pairwiseAdonis* package (<https://github.com/pmartinezarbizu/pairwiseAdonis>) with a Benjamini-Hochberg correction (Benjamini & Hochberg, 1995; Martinez Arbizu, 2020).

A non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis was conducted on the Aitchison distance matrix and ordination scores were obtained using the *metaMDS()* and *scores()* functions in the

vegan package (Oksanen et al., 2022). Numerical environmental variables were added to the ordination by adjusting the environmental vectors to the ordination using the *envfit()* function in the *vegan* package (Oksanen et al., 2022). To reduce the collinearity of the environmental variables, a dimensional reduction strategy was applied (Salih Hasan & Abdulazeez, 2021). Collinear variables were first identified and grouped together. Each group was then subjected to a principal component analysis (PCA). The first principal component was used to represent the group if it explained at least 80% of the variance of the variables. This value replaced the original variables in the subsequent analysis, reducing the number of variables and minimizing collinearity. Environmental variables and taxa abundance arrows appeared on the NMDS plots when $R^2 > 0.4$ and $p < 0.05$.

5.3.9.3 Functional relative abundance

Using the *microeco* package (C. Liu et al., 2023), relative abundance data for bacteria and fungi were merged with the functional databases FAPROTAX and FUNGuild, respectively (Louca et al., 2016; Nguyen et al., 2016). This approach enabled us to obtain the relative abundances of theoretical functional groups in bacteria and fungi. It also made it possible to determine the theoretical functions of different bacterial and fungal species. Guild assignments classified as 'highly probable' and 'probable' were exclusively taken into account to prevent excessive interpretation of the ecological data (Nguyen et al., 2016). Statistical analysis was carried out in the same way as for alpha diversity comparisons.

5.3.9.4 Relative abundance of functional microorganisms and their relationship to environmental variables

Microorganisms with functions identified in the scientific literature as theoretically affecting the growth of both tree species were selected to identify which environmental variables appeared to influence their relative abundance. The environmental variables were chosen a priori according to the scientific literature, and the linear models with the best linearity, highest adjusted R^2 , and best corrected Akaike criterion (AICc) were plotted (Lindsey & Sheather, 2010). In some cases, it was necessary to remove an outlier. The approach used to sanction the value as an outlier was Tukey's fence. Outlier were data that fell outside the interval: $[Q_1 - k(Q_3 - Q_1), Q_3 + k(Q_3 - Q_1)]$, where Q_1 is first quartile, Q_3 is the third quartile, and k is 1.5 (nonnegative constant for "outlier") (Tukey, 1977).

5.4 Results

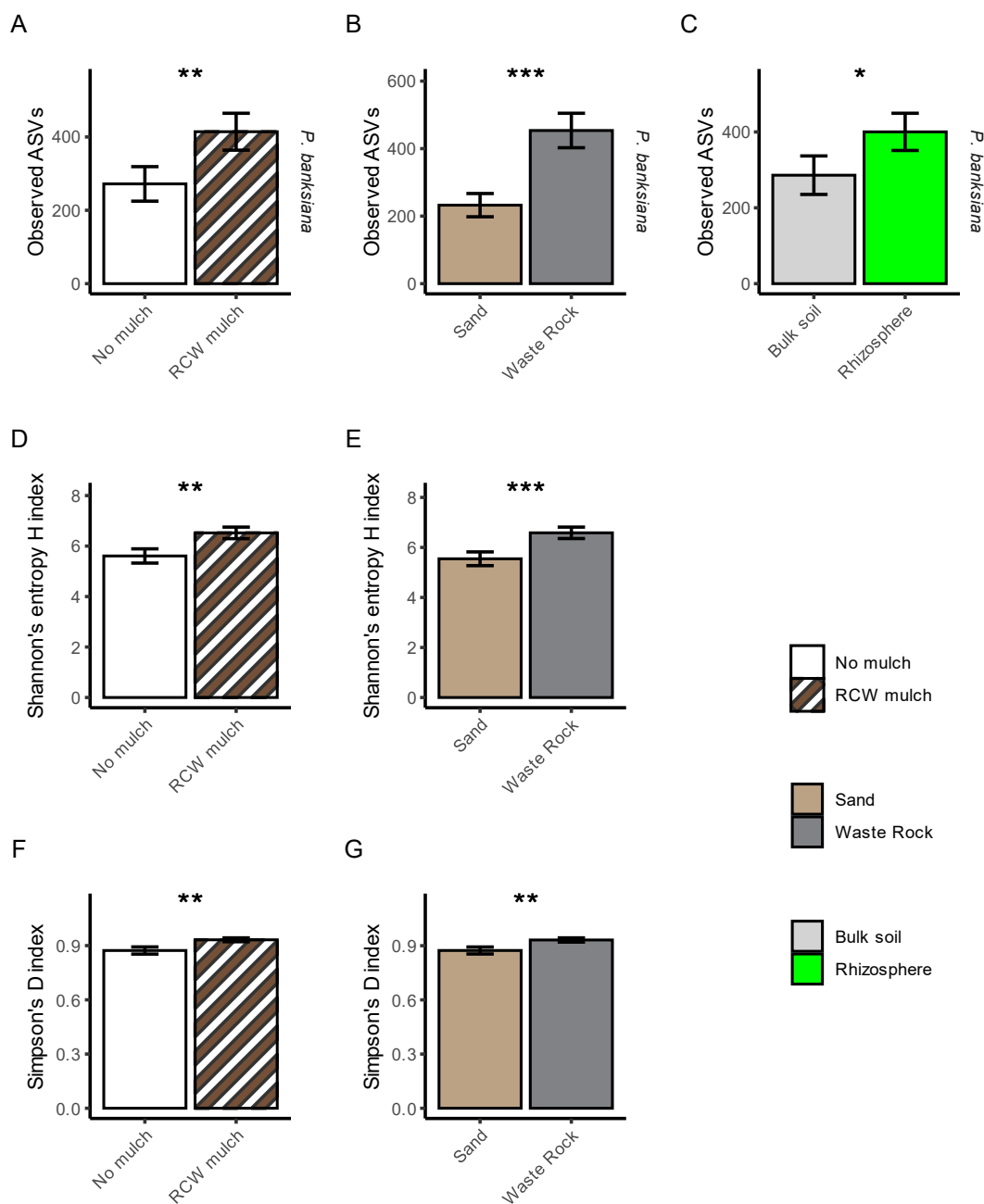
5.4.1 Microbial alpha diversity

5.4.1.1 Effect of RCW mulch on bacterial communities

Regarding the number of observed ASVs, the interaction between compartment and tree species proved significant ($F = 4.91$, $p = 0.031$); thus, the analyses were performed separately for each species (Figure 5.2). For *P. banksiana*, there was significantly more ASV in the presence of RCW mulch than in the absence ($F = 8.33$, $p = 0.009$), there was significantly more ASV when the substrate was composed of waste rock rather than sand ($F = 20.11$, $p < 0.001$), and there was significantly more ASV in the rhizosphere than in the bulk soil ($F = 5.37$, $p < 0.031$). There was no significant difference in the number of ASV in *B. papyrifera*.

For both tree species, whether in the bulk soil or the rhizosphere, the Shannon index was significantly higher when RCW mulch was present than when it was absent ($F = 10.12$, $p = 0.002$), and the index was significantly higher when the substrate was composed of waste rock rather than sand ($F = 13.04$, $p < 0.001$). The same statistical analysis pattern was observed with the Simpson index, after a Box-Cox transformation of the data (mulch: $F = 10.24$, $p = 0.002$; mineral substrate: $F = 10.94$, $p = 0.002$). No significant interactions were reported.

The average values of the three response variables (number of observed ASVs, Shannon's entropy H , and Simpson's D) are shown in a table in the supplementary material (ANNEXE H).



Note: Error bar corresponding to standard error. $\alpha = 0.05$

Figure 5.2: Comparative analysis of alpha bacterial diversity indexes between the soils and treatments. Panels A, B, C displays the number of ASVs observed; panels D and E illustrates the Shannon Entropy Index (H); and panels F and G showcases the Simpson's Index (D). Beige bars represent sand substrates, grey bars indicate waste rock, hatched bars signify the presence of RCW mulch, light green filled bars represent the rhizosphere, and

light grey filled bars represent the bulk soil. Asterisks above the bars indicate the results of the ANOVA. “*” means $0.05 > p\text{-value} \leq 0.01$; “**” means $0.01 > p\text{-value} \leq 0.001$; “***” means $0.001 > p\text{-value}$.

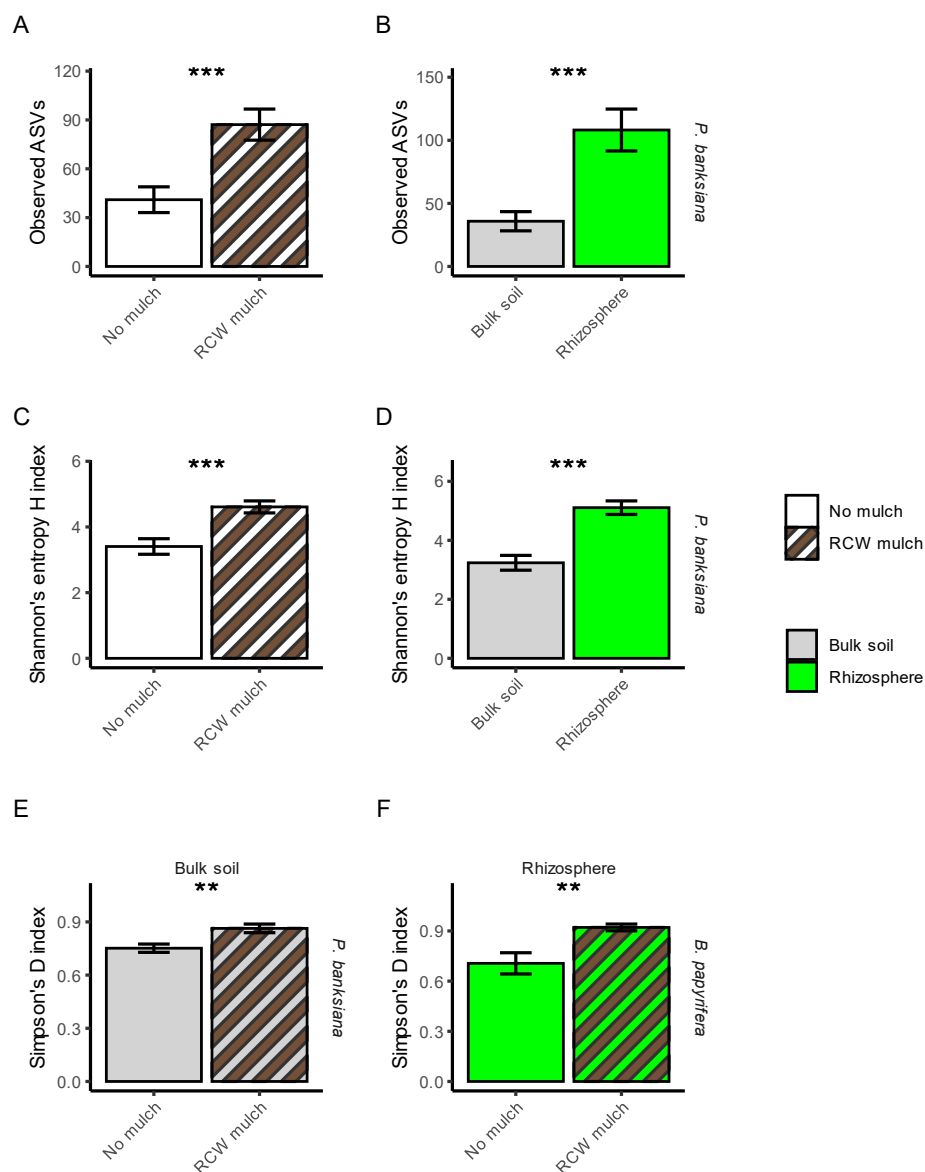
5.4.1.2 RCW mulch treatments impacting fungal communities

Regardless of the tree species and compartment studied, after square-root transformation, the number of observed ASVs was significantly higher when RCW mulch was present than when it was absent ($F = 26.68$, $p < 0.001$) (Figure 5.3). A significant interaction between compartment and species was observed ($F = 12.78$, $p < 0.001$). Analyses were therefore carried out separately for each species. For *P. banksiana* only, there were significantly more observed ASVs in the rhizosphere than in the bulk soil ($F = 29.35$, $p < 0.001$). The type of mineral substrate had no significant effect on the number of observed ASVs.

We identified that the Shannon index was significantly greater when RCW mulch was present than when it was absent ($F = 24.39$, $p < 0.001$). A significant interaction was observed between compartment and tree species ($F = 15.85$, $p < 0.001$). For *P. banksiana*, the Shannon index was significantly higher in the rhizosphere than in the bulk soil ($F = 39.43$, $p < 0.001$).

For Simpson's index, significant interactions were observed between compartment and tree species ($F = 18.71$, $p < 0.001$), as well as between the presence of RCW mulch, compartment, and tree species ($F = 4.34$, $p = 0.043$). For *P. banksiana*, the Simpson's index was greater in bulk soil collected near the plant with RCW mulch than without mulch ($F = 10.59$, $p = 0.007$). For *B. papyrifera*, the Simpson's index was greater in the rhizosphere of the plant with the presence of RCW mulch than without mulch ($F = 17.99$, $p = 0.001$).

The average values of the three response variables (number of observed ASVs, Shannon's entropy H , and Simpson's D) are shown in a table in the supplementary material (ANNEXE H). The composition of bacterial and fungal communities, at the species level, is represented using stacked taxa bar charts present in the supplementary material of the paper (ANNEXE H).



Note: Error bar corresponding to standard error. $\alpha = 0.05$

Figure 5.3: Comparative analysis of alpha fungal diversity indexes between the soils and treatments. Panel A displays the number of ASVs observed between presence and absence of RCW mulch for both species; panel B displays the number of ASVs observed in the two compartments for *P. banksiana*; panel C displays Shannon Entropy Index (H) between presence and absence of RCW mulch for both species; panel D displays the Shannon Entropy Index (H) in the two compartments for *P. banksiana*; panel E displays the Simpson's Index (D) between presence and absence of RCW mulch in the bulk soil near the

excavated *P. banksiana* seedlings; and panel F displays the Simpson's Index (D) between presence and absence of RCW mulch in the rhizosphere of *B. papyrifera*. Hatched bars signify the presence of RCW mulch, light green filled bars represent the rhizosphere, and light grey filled bars represent the bulk soil. Asterisks above the bars indicate the results of the ANOVA. “***” means $0.01 > p\text{-value} \leq 0.001$; “****” means $0.001 > p\text{-value}$.

5.4.2 Microbial beta diversity

5.4.2.1 Bacterial communities

Bacterial communities were significantly different in the rhizosphere of *P. banksiana* and in the bulk soil with and without RCW mulch on sand (PERMANOVA, $p = 0.028$ and $p = 0.023$, respectively). The bacterial taxonomic groups most characteristic of the bacterial communities in the different treatment groups are indicated by dark orange arrows in Figure 5.4. Physicochemical conditions, in particular conductivity, total organic carbon, and nitrogen, appear to explain the breakdown of ordination. In the case of the rhizosphere, the abundance of the herbaceous species *Pilosella ceaspitosa* also seemed to contribute to the distance between communities.

The bacterial communities were also significantly different according to the mineral substrates, in the rhizosphere of *P. banksiana* and *B. papyrifera* and the bulk soil near the plants, with and without RCW mulch (PERMANOVA; $p = 0.001$ in all cases for *P. banksiana*; $p = 0.001$ without RCW mulch and $p = 0.003$ with RCW mulch for *B. papyrifera*). There were no significantly different communities between the bulk soil and the rhizosphere of each species. Here too, physicochemical conditions seem to explain the dispersion of ordination, in particular pH, conductivity, the presence of contaminants (reduced PC1: As, Ba, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Ti, V, Zn), and nutrients (reduced PC1: N, P, S, TOC, K, Mg).

The results of this analysis are shown graphically in Figure 5.4.

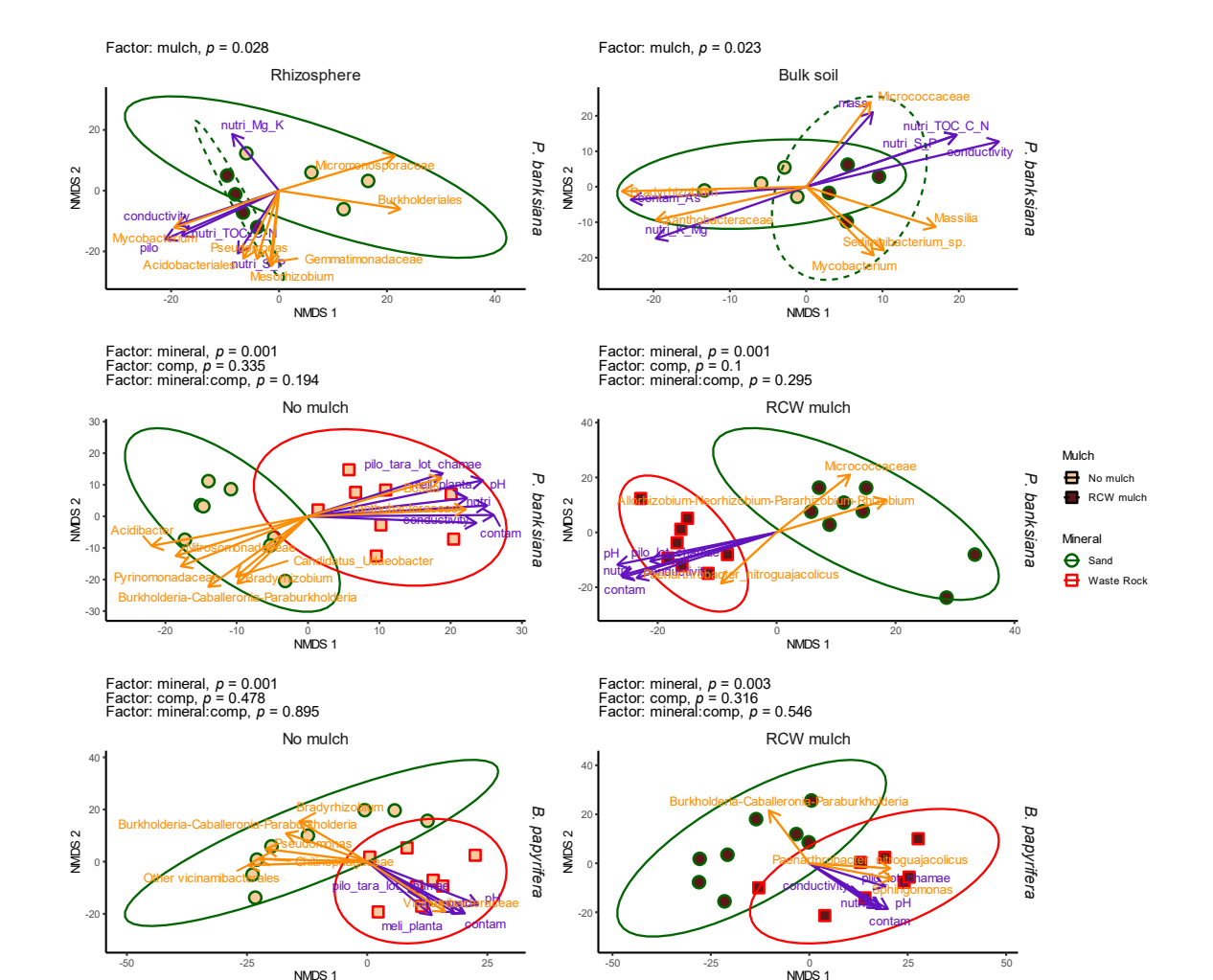


Figure 5.4: Non-metric Multidimensional Scaling analysis of bacterial communities based on Aitchison distance. The color of the ellipse and figure outlines indicates the substrate type: green for sand and red for waste rock. Continuous-line ellipses and 'wheat'-colored fill figure represent bacterial communities of soils (rhizosphere or bulk soil) without RCW mulch, while dashed-line ellipses with brown fill correspond to communities of soils with RCW mulch. Dark violet arrows depict environmental variables, whereas dark orange arrows represent the relative abundance of taxa ($R^2 > 0.4$).

5.4.2.2 Fungal communities

The significant difference in fungal communities was observed only between the two types of mineral substrate, independently of the compartment, when the tree species studied was *B. papyrifera* and these substrates were covered with RCW mulch (PERMANOVA, $p = 0.046$). All

other cases were not significant, although a few appreciable but non-significant differences were observed (Figure 5.5).

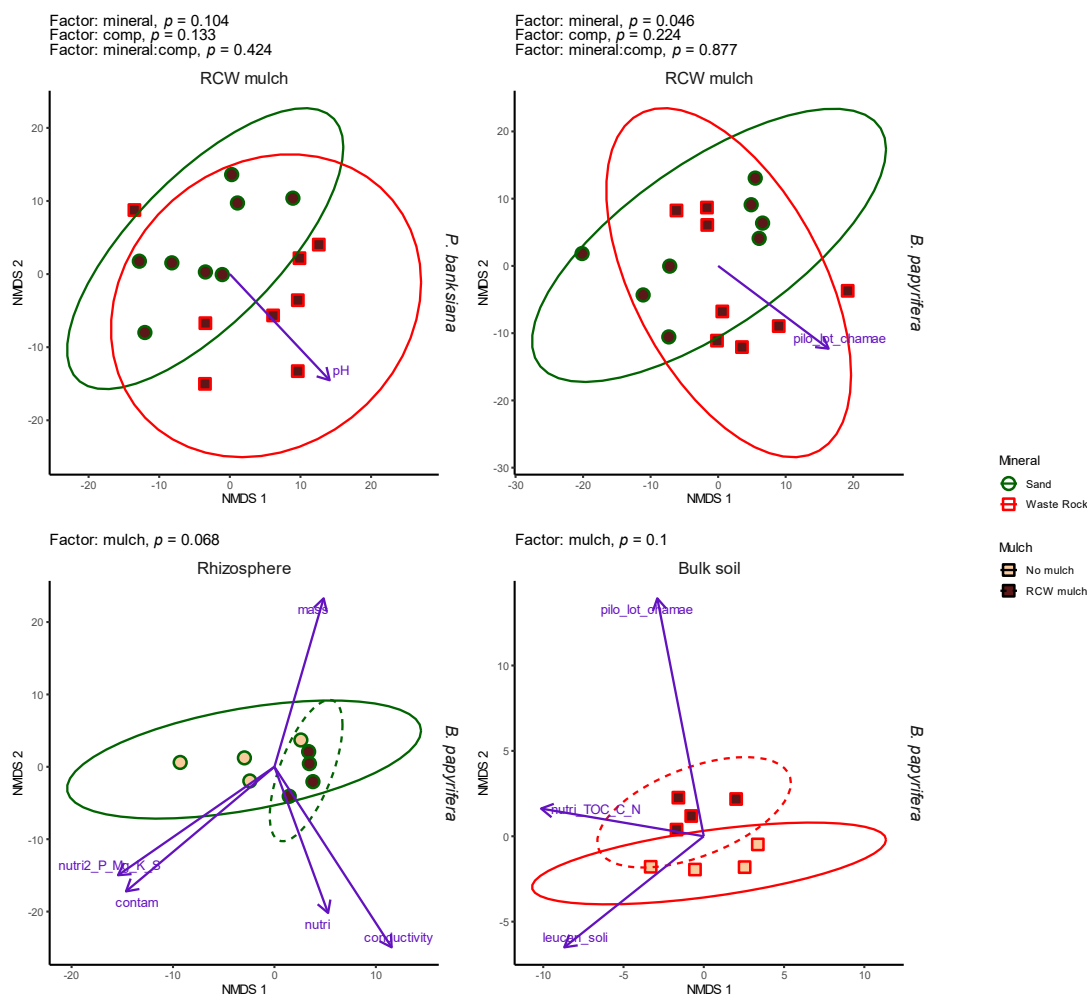


Figure 5.5: Non-metric Multidimensional Scaling analysis of fungal communities based on Aitchison distance. The color of the ellipse and figure outlines indicates the substrate type: green for sand and red for waste rock. Continuous-line ellipses and "wheat"-colored fill figure represent fungal communities of soils (rhizosphere or bulk soil) without RCW mulch, while dashed-line ellipses with brown fill correspond to communities of soils with RCW mulch. Dark violet arrows depict environmental variables ($R^2 > 0.1$).

5.4.3 Functional diversity

5.4.3.1 Bacterial functional diversity

Analysis of differences in the relative abundance of bacterial groups capable of fermentation between factors showed a significant interaction between the ‘mineral’ and ‘compartment’ factors ($F = 8.99$, $p = 0.004$), so the analysis was nested. The results of the nested analysis are shown in the Figure 5.6-A. In the rhizosphere of *P. banksiana* in the sand, RCW mulch significantly increased the relative abundance of fermentation bacteria.

The relative abundance of bacteria capable of degrading aromatic compounds was significantly higher in waste rock than in sand ($F = 51.33$, $p < 0.001$). No significant interactions were observed.

Given the presence of significant interaction between the ‘mulch’, ‘compartment’, and ‘species’ factors in the linear mixed-effect model analysis of the anaerobic chemoheterotroph bacteria relative abundance ($F = 4.81$, $p = 0.032$), a nested analysis was conducted. It was determined that in the *B. papyrifera* rhizosphere, the relative abundance of anaerobic chemoheterotroph bacteria was significantly greater when RCW mulch was present than when it was absent. The results are presented in the Figure 5.6-C.

Analysis of differences in the relative abundance of bacteria capable of ureolysis showed a significant interaction between the ‘mulch’, ‘compartment’, and ‘species’ factors ($F = 10.64$, $p = 0.002$). The analysis was therefore nested and revealed that the relative abundance of these bacteria was greater than when RCW mulch was present only for the rhizosphere of *P. banksiana* and the bulk soil near *B. papyrifera* seedlings ($F = 12.3$, $p = 0.002$). Results are shown in Figure 5.6-D.

Analysis of differences in the abundance of nitrogen-fixing bacteria showed that differences existed between tree species, the presence or absence of RCW mulch, mineral substrates, and compartments. No significant interactions were observed. For each factor considered independently, the relative abundance of these bacteria was significantly higher when RCW mulch was present than when it was absent ($F = 10.03$, $p = 0.002$), on sand than on waste rock ($F = 11.8$, $p = 0.001$), in the rhizosphere than in bulk soil ($F = 16.4$, $p < 0.001$), and in *P. banksiana* than in *B. papyrifera* ($F = 12.34$, $p = 0.001$) (bulk soil and rhizosphere). Results are shown in Figure 5.7.

Means and standard errors are presented in two tables in the supplementary material (ANNEXE H).

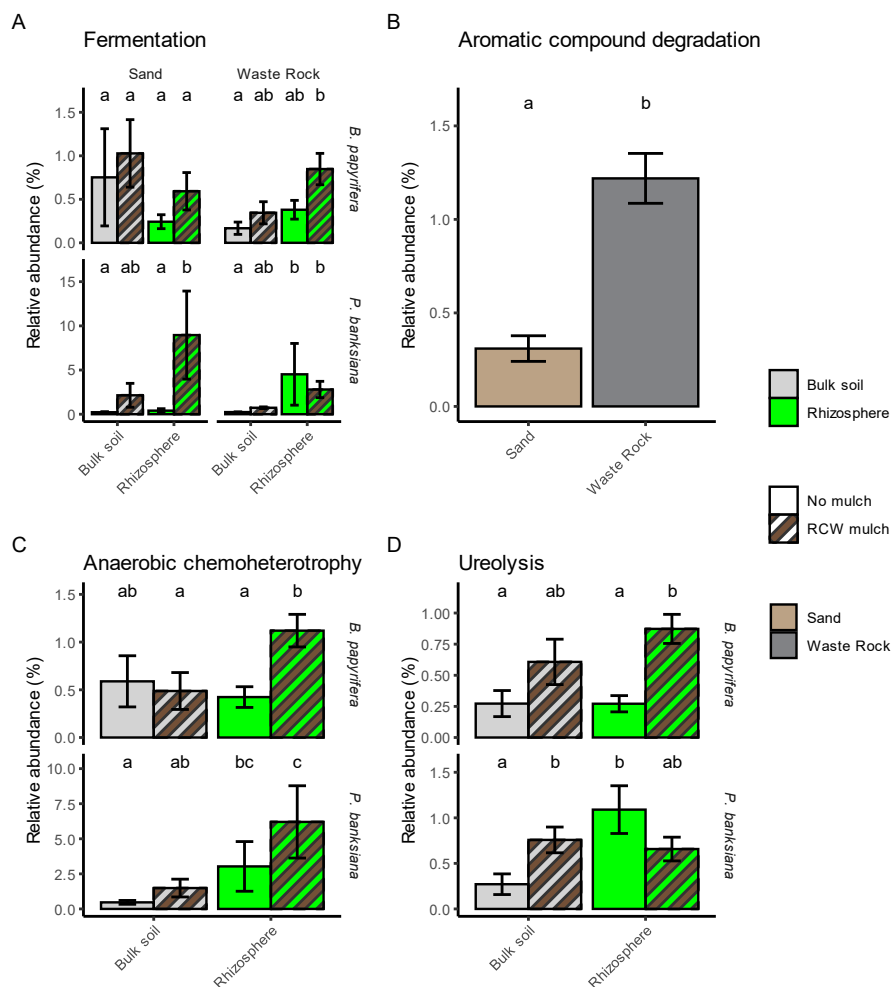


Figure 5.6: Comparative analysis of relative abundance of bacterial functional groups between the soils and treatments. Functional group plot: A – fermentation; B – aromatic compound degradation; C – anaerobic chemoheterotrophy; D – ureolysis. Beige bars represent sand substrates, grey bars indicate waste rock, hatched bars signify the presence of RCW mulch, light green filled bars represent the rhizosphere, and light grey filled bars represent the bulk soil. Letters above the bars indicate the results of post hoc tests for statistical significance. Groups sharing the same letter did not differ significantly at the 0.05 alpha significance level.

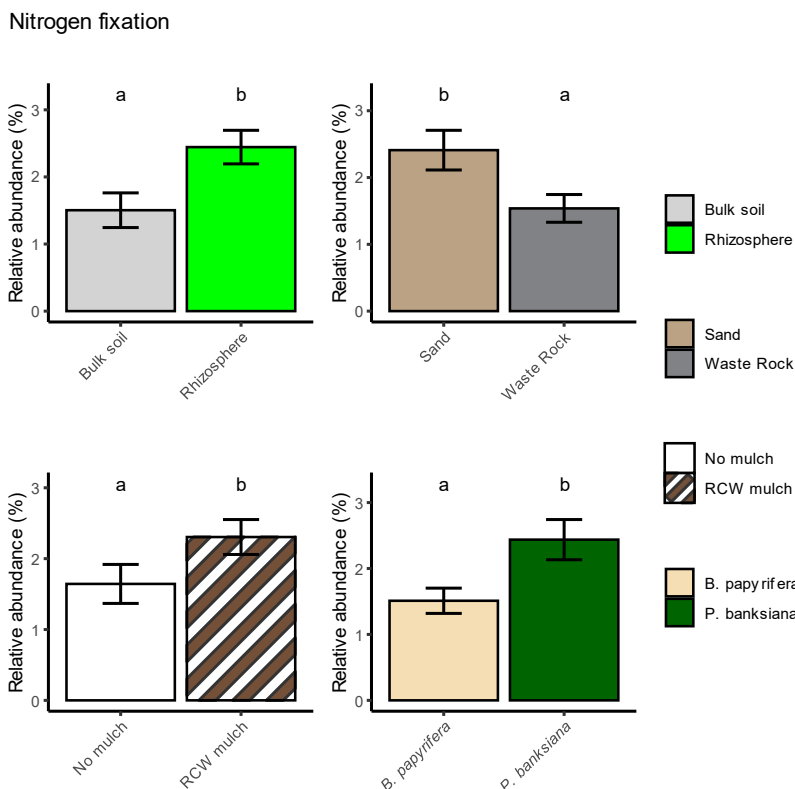


Figure 5.7: Comparative analysis of relative abundance of nitrogen fixing bacteria between the soils and treatments. Beige bars represent sand substrates, grey bars indicate waste rock, light green bars represent the rhizosphere, light grey bars represent the bulk soil, dark green bars indicate *P. banksiana*, “wheat” bars represent *B. papyrifera*, and hatched bars signify the presence of RCW mulch. Letters above the bars indicate the results of post hoc tests for statistical significance. Groups sharing the same letter did not differ significantly at the 0.05 alpha significance level.

5.4.3.2 Fungal functional diversity

No significant interaction between factors was observed for the arbuscular mycorrhizal relative abundance. The relative abundance of this functional group was greater on sand than on waste rock ($F = 23.097$, $p < 0.001$). Results are presented in Figure 5.8-A.

A significant interaction was observed between the ‘mulch’ and ‘compartment’ factors concerning ectomycorrhizal fungi relative abundance ($F = 5.27$, $p = 0.025$), so a nested analysis was conducted. The relative abundance of ectomycorrhizal fungi was only significantly higher in the bulk soil with

RCW mulch than in the bulk soil without RCW mulch ($F = 20.9$, $p < 0.001$). Results are shown in Figure 5.8-B.

The relative abundance of plant pathogen fungi was significantly higher in the rhizosphere of the tree species than in the bulk soil ($F = 12.3$, $p < 0.001$). Results are shown in Figure 5.8-C.

There was a significant interaction between the four factors in the ANOVA performed on the relative abundance of wood saprotrophic fungi ($F = 5.42$, $p = 0.023$). The nested analysis revealed that the relative abundance of this fungal functional group was significantly greater in the bulk soil near to *P. banksiana* seedlings when the mineral substrate was sand and when RCW mulch was present ($F = 33.5$, $p = 0.01$). These results are presented in Figure 5.8-D.

Finally, analysis of differences in the relative abundance of endophyte fungi showed a significant interaction between the ‘mulch’, ‘mineral’, and ‘species’ factors ($F = 7.44$, $p = 0.008$). The analysis was therefore nested and revealed significant differences between mineral substrates and the compartment with the two tree species. The results are shown in Figure 5.8-E.

In the same way as for the previous comparative analysis of the relative abundance of bacterial functional groups, means and standard errors are presented in two tables in the supplementary material (ANNEXE H).

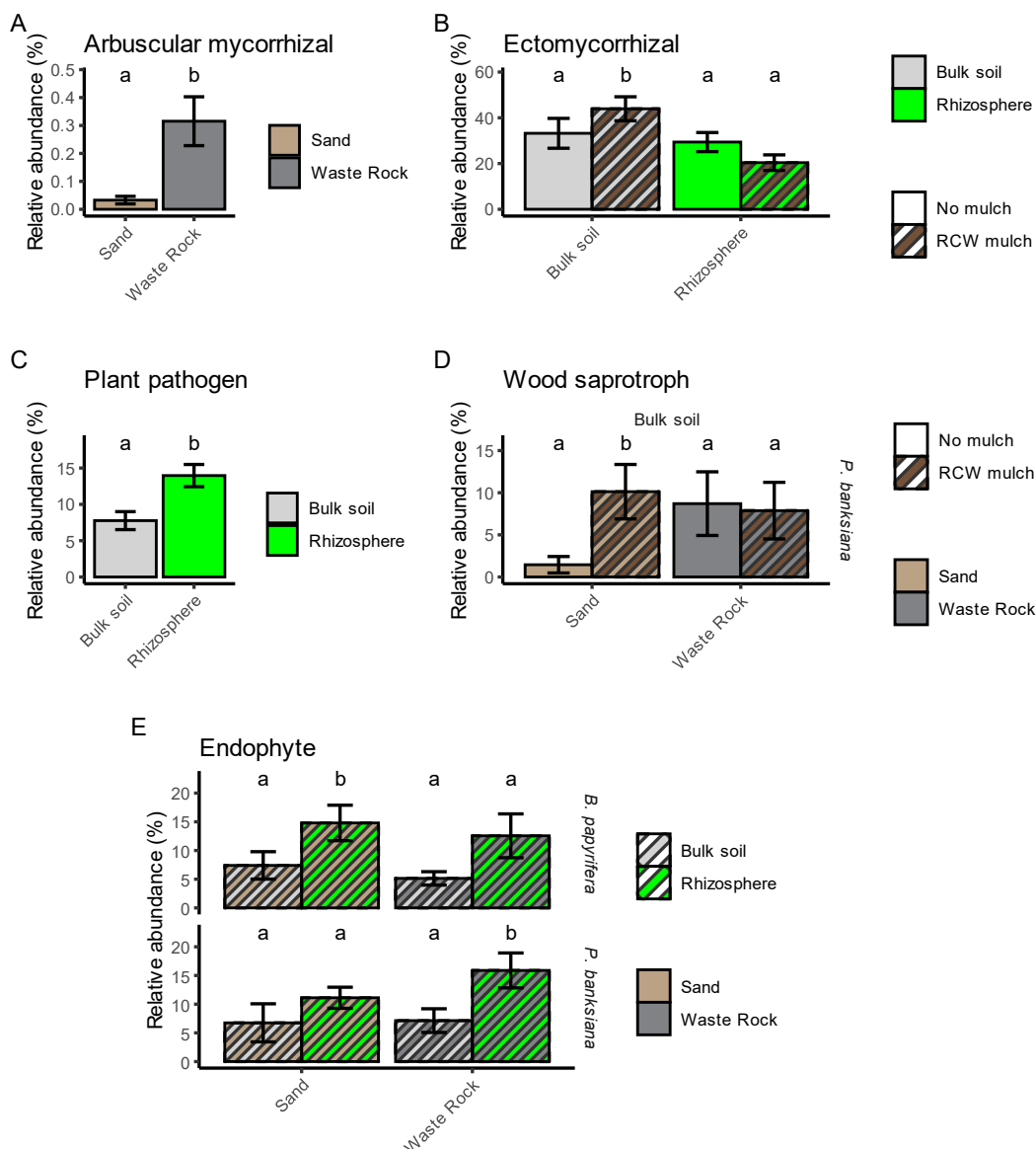


Figure 5.8: Comparative analysis of the relative abundance of fungal functional groups between the soils and treatments. Functional group plot: A – arbuscular mycorrhizal; B – ectomycorrhizal; C – plant pathogen; D – wood saprotroph; E – endophyte. Beige bars represent sand substrates, grey bars indicate waste rock, light green bars represent the rhizosphere, light grey bars represent the bulk soil, dark green bars indicate *P. banksiana*, “wheat” bars represent *B. papyrifera*, and hatched bars signify the presence of RCW mulch. Letters above the bars indicate the results of post hoc tests for statistical significance.

Groups sharing the same letter did not differ significantly at the 0.05 alpha significance level.

5.4.3.3 Relative abundance of microorganisms and environmental explanatory variables

5.4.3.3.1 Bacteria and total organic carbon

Clear linear relationships (adjusted R^2 at least > 0.5) were observed between the relative abundance of three bacterial genera (*Pirellula* spp., *Nocardioides* spp., and *Pedomicrobium* spp.) and the total organic carbon concentration (Figure 5.9).

With *Pirellula* spp., the relationship was observed in bulk soil, in the rhizosphere of both tree species, with and without RCW mulch, and across both types of mineral substrate (adjusted $R^2 = 0.6$), but no single factor explained this relationship, even when the analysis was nested.

The relative abundance of *Nocardioides* spp. in *P. banksiana* bulk soil was strongly linearly related to the total organic carbon concentration (adjusted $R^2 = 0.79$). The type of mineral substrate had a significant effect on this relationship ($p = 0.036$). RCW mulch appears to have had a positive effect on this relationship, but this was not significant (even when the analysis was nested by mineral substrate).

The relative abundance of *Pedomicrobium* spp. in the bulk soil was strongly related to the total organic carbon concentration (adjusted $R^2 = 0.73$), but no single factor explained this relationship, even when the analysis was nested.

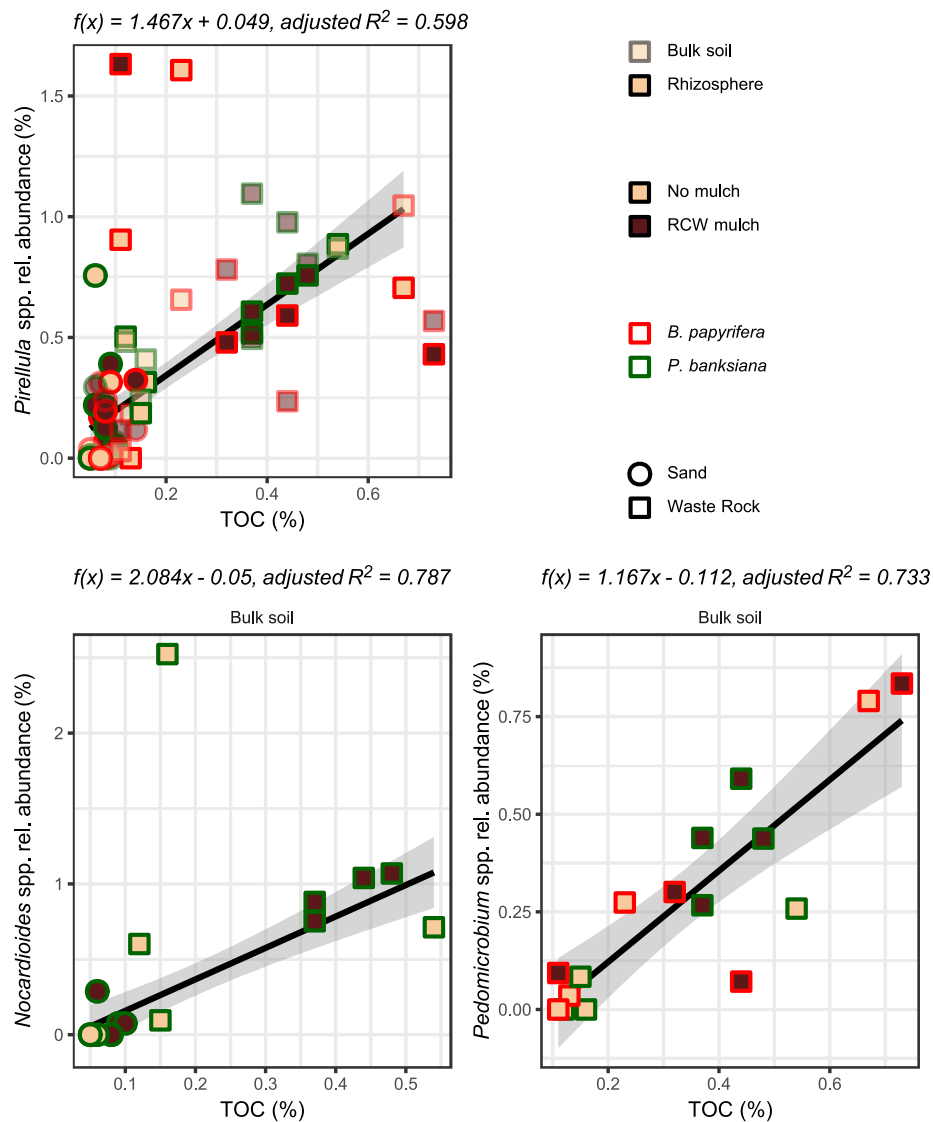


Figure 5.9: Linear relationship of the total organic carbon (TOC) concentration on bacterial abundance. From left to right and from top to bottom: 1) *Pirellula* spp. in bulk soil and rhizospheres of *B. papyrifera* and *P. banksiana*, 2) *Nocardioideae* spp. in bulk soil near *P. banksiana*, and 3) *Pedomicrobium* spp. in waste rock bulk soil. Common markers are used across plots: RCW mulch presence is indicated by brown (presence) or wheat (absence) fill colors, tree species by red (*B. papyrifera*) or dark green (*P. banksiana*) outlines, and substrate type by circle (sand) or square (waste rock) shapes. Partial transparency in markers differentiates bulk soil in the first plot. Regression equations and adjusted R^2 values are displayed above each plot.

5.4.3.3.2 Bacteria and other physicochemical variables in the rhizosphere of *B. papyrifera*

The relative abundance of *Sphingomonas* spp. was positively and strongly related to the pH of the *B. papyrifera* rhizosphere (adjusted $R^2 = 0.88$), while the relative abundance of Burkholderiaceae was negatively and strongly related to the concentrations of mineral and organic carbon in the rhizosphere of *B. papyrifera* (adjusted $R^2 = 0.85$) (Figure 5.10).

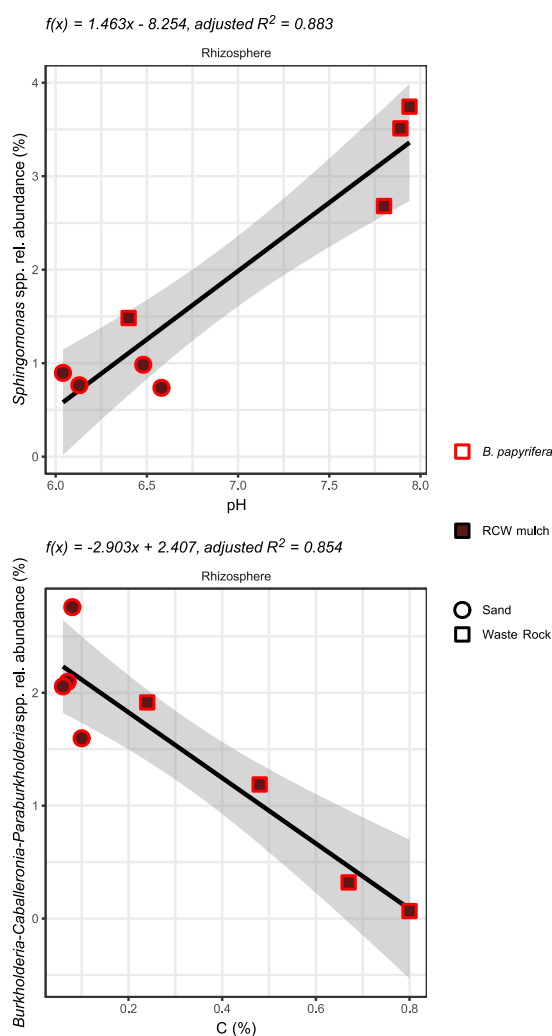


Figure 5.10: Linear relationship of other physicochemical soil properties on bacterial abundance in the rhizosphere of *B. papyrifera*, when soil was RCW mulched. From top to bottom: 1) effect of the pH on *Sphingomonas* spp. relative abundance and 2) effect of total carbon (mineral and organic) on Burkholderiaceae species. Common markers are used across plots:

substrate type by circle (sand) or square (waste rock) shapes. Regression equations and adjusted R^2 values are displayed above each plot.

5.4.3.3 Bacteria and *Pilosella ceaspitosa* cover

The relative abundance of *Nocardioides* spp. was related to the cover of the herbaceous species that had naturally colonized the site, *P. ceaspitosa* (adjusted $R^2 = 0.45$) (Figure 5.11). The factor with a significant influence on the linear relationship was tree species ($p = 0.048$).

The relative abundance of *Duganella* spp. in the rhizosphere of *B. papyrifera* when the soil had been mulched with RCW was strongly and negatively linearly related to the cover of the herbaceous species *P. ceaspitosa* (adjusted $R^2 = 0.87$).

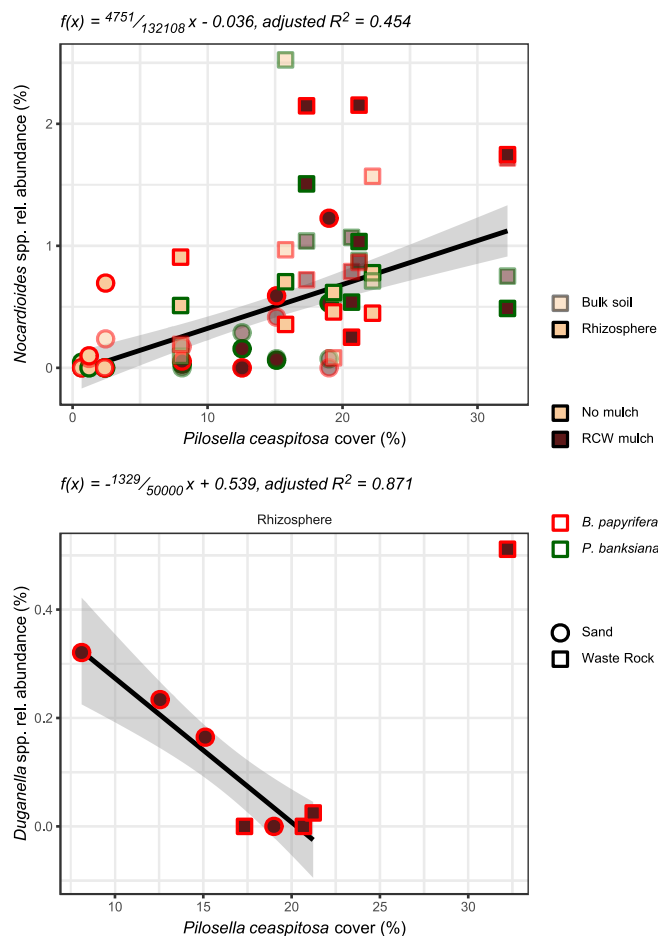


Figure 5.11: Linear relationship of *Pilosella ceaspitosa* cover on bacterial abundance. From top to bottom: 1) effect of *P. ceaspitosa* cover on *Nocardioides* spp. relative abundance and 2)

effect of *P. ceaspitosa* cover on *Duganella* spp. Common markers are used across plots: RCW mulch presence is indicated by brown (presence) or wheat (absence) fill colors, tree species by red (*B. papyrifera*) or dark green (*P. banksiana*) outlines, and substrate type by circle (sand) or square (waste rock) shapes. Partial transparency in markers differentiates bulk soil in the first plot. Regression equations and adjusted R^2 values are displayed above each plot.

5.4.3.3.4 *P. banksiana* seedling biomass and rhizosphere relative abundance of fungi taxa *Talaromyces* spp.

Whether on sand or waste rock, the relative abundance of the fungal species *Talaromyces* spp. in the rhizosphere of *P. banksiana* was positively and strongly linearly related to the biomass of *P. banksiana* seedlings (adjusted $R^2 = 0.93$ and 0.75 , respectively) (Figure 5.12).

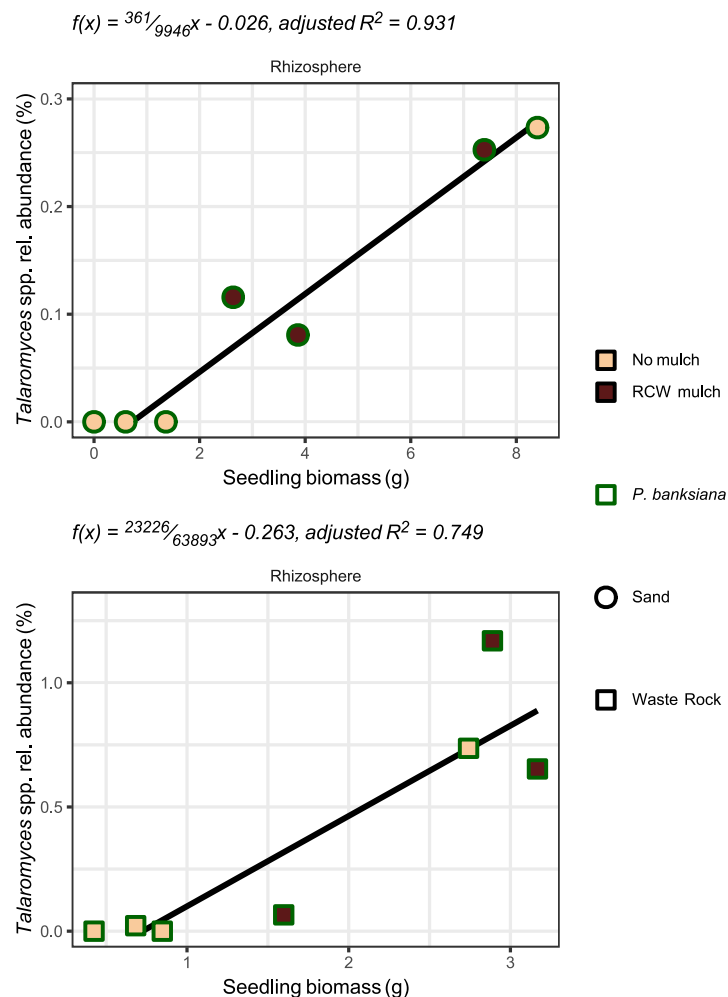


Figure 5.12 : Linear relationship of *Talaromyces* spp. fungi abundance in the rhizosphere according to the *P. banksiana* seedling biomass. Common markers are used across plots: RCW mulch presence is indicated by brown (presence) or wheat (absence) fill colors, substrate type by circle (sand) or square (waste rock) shapes. Regression equations and adjusted R^2 values are displayed above each plot. To facilitate visualization of the data at a reasonable scale, one point in each plot (corresponding to a Tukey's fence outlier) is not shown.

5.5 Discussion

In this study we demonstrated that RCW mulch influenced species richness and bacterial diversity. The number of bacterial species observed was generally higher (although not always significant)

when RCW mulch was used, particularly with *P. banksiana* and on sand. On the other hand, the effect of RCW was less marked for fungal diversity, where not only were far fewer species observed than for bacteria, but species richness also differed less between treatment groups, compartments, and seedling species. This phenomenon was also observed with beta diversity, which showed significantly different communities depending on the presence or absence of RCW mulch on sand, whether in the rhizosphere of *P. banksiana* or in the bulk soil. However, there was no difference in the beta diversity of fungal communities, whether RCW mulch was present. These results suggest that RCW mulch partially stimulates bacterial communities, particularly in *P. banksiana*, but has no detected effect on fungal communities less than five years after the colonization of tree seedlings on waste rock. Our results show that the relative abundance of several bacterial groups increases with soil C, which could be an underlying effect of RCW mulch. Moreover, these results corroborate the few found in the literature, where the addition of organic matter in the form of mulch has stimulated the early development of microbial communities on mineral substrates, in a context of primary succession (Wang et al., 2023; Y. Wang et al., 2022). The use of mulches, particularly organic mulches, has been associated with an increase in soil organic matter and changes in enzyme activities, impacting microbial succession (Kumari et al., 2022). However, it is interesting to note that in the context of secondary succession (mulching to replace grazing in Slovak and Czech meadows), mulching sometimes had negative effects on microbial diversity and biomass, particularly for fungi (Caboň et al., 2021; Uhlířová et al., 2005). According to the authors, in the first paper it was assumed that lower temperatures and light interception by the mulch reduced photosynthesis and carbon transfer to roots and microorganisms, while in the second paper, mulching would have increased nutrient availability, favoring certain species to the detriment of community diversity.

The presence of early primary successional herbaceous species *P. ceaspitosa* (Taurines et al., 2024), as well as the chemical properties of the substrate, particularly the higher concentration of macronutrients on plots with RCW mulch, seems to explain the difference between the bacterial communities on sand and in the *P. banksiana* rhizosphere. *P. ceaspitosa* was shown to play an important role in promoting strong relationships within soil microorganisms, particularly bacteria in extreme conditions (Ogar et al., 2015; Zhang et al., 2019). It is quite likely that this type of early successional herbaceous species makes a major contribution to the development of soil bacterial communities in early successional series, particularly in the context of extreme disturbance and

primary succession (Ogar et al., 2015). Moreover, macronutrient concentrations, particularly organic carbon and nitrogen, have been widely identified as factors driving changes in bacterial communities (Ge et al., 2010; Lin et al., 2011; Liu et al., 2020). Our results are therefore in line with those found in contemporary scientific literature.

Addition of RCW mulch also enabled the development of bacterial and fungal communities with functional groups of interest to plant development in general. Bacterial communities were richer in nitrogen-fixing bacteria with RCW mulch than without. Moreover, RCW stimulated the development of bacterial communities in the rhizosphere of *B. papyrifera* that were more diversified in bacteria capable of ureolysis (indicating ammonium production) and anaerobic chemoheterotrophy (indicating a trophic mode potentially involving a host). Recent studies have shown that the addition of organic matter in the form of straw mulch boosted the relative abundance of nitrogen-fixing bacteria, anaerobic chemoheterotrophic bacteria, and bacteria capable of ureolysis in the rhizosphere of maize plants (B. Liu et al., 2023). Wood-saprotrophic and ectomycorrhizal fungi were also more abundant in bulk soil fungal communities where RCW mulch (and therefore organic matter) was present than where it was absent. Some authors have demonstrated that the addition of organic matter in the form of mulch can stimulate the presence of ectomycorrhizal fungi and facilitate the development of relationships with pine species such as *Pinus sylvestris* (Aucina et al., 2015). On the other hand, in the case of plant recovery after forest fires, the addition of mulch does not seem to facilitate the establishment of saprotrophic fungal guilds (Espinosa et al., 2023).

The above-mentioned results partly support our first hypothesis (H1), demonstrating that the addition of RCW mulch to mineral substrates enhances the microbial richness and diversity, particularly enriching the soil with functional microbes beneficial for the establishment of tree seedlings (e.g., organic matter decomposition through saprotrophic nutrition, mycorrhization, nitrogen fixation, etc.).

In a context of primary succession, such as restoration by spontaneous colonization of mineral substrates in boreal environments, it seems that the addition of RCW mulch could positively stimulate the early development of a bacterial community. This bacterial community could benefit from the development of certain coniferous species, such as *P. banksiana* as shown in this study.

Although the mineral substrate did not always have a significant effect on the alpha diversity of bacterial communities, species richness was significantly higher on waste rock alone than on sand alone. However, this trend was not observed with fungal communities. The properties of the mineral substrates that most influenced the development of these communities were pH and the chemical composition of the mineral materials. These results are in line with those found in the literature for research carried out on waste rock from a mine site close (< 20 km) to the study area (Rheault et al., 2020). In the present study, the pH was more alkaline in waste rock than in sand. One of the most abundant genera in bacterial communities on sand in the absence of mulch was *Acidibacter*, which is acidophilic (Kielak et al., 2016; Sait et al., 2006). It seems that the mineral substrate had an important effect on the development of the microbial and bacterial community, regardless of the compartment studied and independently of the seedling species studied. This shows that microbial communities develop according to the physicochemical properties of the environment five years after the start of primary succession and are only slightly influenced by the tree seedlings that colonize the environment at this stage. These findings also align with our second hypothesis (H2), indicating that the differences in beneficial microbial communities are more pronounced between the types of mineral substrates than between the compartments (rhizosphere and bulk soil) or the tree species, emphasizing the primary influence of the mineral substrate on microbial community development.

However, it is important to specify that our results seem to differ from those obtained in another research project involving waste rock from a former site (Rheault et al., 2020). Those authors found that the presence of mature poplar on waste rock was one of the most important factors influencing microbial communities by modifying the physicochemical properties of the substrate (Rheault et al., 2020). The reason for the divergent results is probably due to the immaturity of the individuals sampled in our study. This would suggest that in the very early years of spontaneous colonization, trees are not yet able to influence the development of microbial communities. Only the relative abundance of nitrogen-fixing bacteria appears to have been influenced by all groups of factors, including the compartment studied and the seedling species.

The fact that the development of fungal communities seemed little affected by the factors and variables measured in our study, showing a development that was largely more stochastic than that of bacteria, seems to concur with the results obtained by a chronosequence study of primary microbial succession in a boreal context in the Nanwenghe National Nature Reserve in China (Jiang

et al., 2021). The authors found that bacteria and fungi did not follow the same successional trajectory (Jiang et al., 2021). They also demonstrated that the development of fungal communities changed more often during succession, while bacterial communities developed rapidly at the beginning and changed very little throughout succession (Jiang et al., 2021). These results were also observed in an 850-year chronosequential study of a lava flow in Iceland (Cutler et al., 2014). Mycorrhizal associations between plants and fungi were observed late in the succession (Cutler et al., 2014). Our results are also similar to those found in a recent research paper on the use of mulch at the Loess Plateau in China, where the authors found that mulching governed the assembly processes of bacteria but not fungi (Tian et al., 2022).

Our results, combined with those of the works cited above, seem to show that the addition of organic matter in the form of mulch has a different effect on the development of bacterial communities depending on the context of succession. In primary succession, where stochasticity plays a major role, the addition of mulch could provide additional resources that promote increased diversity and the establishment of new bacterial communities (Dini-Andreote et al., 2015; Sigler et al., 2002). On the other hand, in secondary succession, where community structure is more established and influenced by determinism, the addition of mulch may disrupt the existing equilibrium (Dini-Andreote et al., 2015). Our results could therefore reflect the first stages of this transition from stochastic to deterministic dominance in the microbial community depending on the succession context, as described in the conceptual model of Dini-Andreote et al 2015. This highlights the importance of considering the context of microbial succession when planning ecological restoration strategies. The use of RCW mulch could be relevant to the ecological restoration of highly disturbed environments, corresponding to a context of primary succession, such as waste rock piles. Its application would accentuate this successional transition to increase the speed of establishment of bacterial communities useful to colonizing plants.

It is important to explore in more detail the functional roles of microorganisms present on this type of substrate using metaproteomic or metatranscriptomic methods, enabling us to see only living organisms and, above all, to directly observe the presence of microbiotic functions in the ecosystem. Our results also show that the response of microorganisms to the presence of RCW mulch is variable according to the type of mineral substrate, and that the use of such a material can therefore only be envisaged for restoration works according to the type of mineral substrate present on the site to be restored. It would be advisable for practitioners of ecological restoration of mining

sites to carry out revegetation tests with RCW mulch on a part of the waste rock during the operating phase before opting for this type of approach (Bussière & Guittonny, 2020).

5.6 Conclusion

This study examined the impact of RCW mulch on microbial diversity in primary succession on mine waste rock. We found that RCW mulch significantly enhanced bacterial diversity, particularly around *P. banksiana* and on sandy substrates, while its effect on fungal diversity was less marked. These results suggest that RCW mulch can be an effective material for the restoration of highly disturbed ecosystems, for stimulating bacterial communities beneficial to pioneer trees during primary succession in boreal environments. This study not only provides practical guidance for ecological restoration practices, but also contributes to the theoretical understanding of microbial succession in primary successional contexts. Future research should focus on the long-term impacts of RCW mulch on microbial communities and forest ecosystem development, as well as its application for the ecological restoration of mine waste rock in comparison with other soil amendments, treatments, and mulch materials.

5.7 Acknowledgments

We acknowledge the financial support from MITACS, Agnico Eagle Mines Limited, IRME UQAT-Polytechnique, the Centre d'Étude de la Forêt (CEF) and Natural Resources Canada, as well as the laboratory facilities of Centre de Foresterie des Laurentides at Natural Resources Canada and URSTM at UQAT. We are very thankful to Dennis Escolástico Ortiz for reviewing and providing constructive feedback on our manuscript. We also thank J. Jamieson-Hanes for English editing of the manuscript. Lastly, we are grateful to our research team, colleagues, participants, and supporters for their valuable contributions.

CHAPITRE 6 DISCUSSION GÉNÉRALE

6.1 Objectifs de recherche spécifiques

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse de doctorat ont permis d’apporter des réponses aux problématiques formulées dans le CHAPITRE 1. La présente partie s’attarde à décrire dans quelles mesures les travaux ont permis de répondre à ces problématiques de recherche pour chacun des objectifs spécifiques individuellement.

6.1.1 Efficacité du BRF dans la colonisation des roches stériles par les essences forestières boréales

Le premier objectif spécifique avait pour objectif de déterminer si l’utilisation d’un paillis de BRF pouvait faciliter la colonisation des essences boréales sur un substrat composé de roches stériles. L’objectif était également de déterminer quelles étaient les propriétés du substrat qui étaient améliorées pour faciliter cette colonisation.

Les résultats du CHAPITRE 3 montrent que le paillis de BRF de saule a eu un impact positif sur la colonisation de certaines essences, notamment *P. glauca* qui est une espèce pionnière en contexte de succession primaire, particulièrement post-glacière (Lafontaine & Payette, 2012). C’est une espèce tolérante aux stress physico-chimiques imposés par des milieux hautement perturbés. Le BRF a non seulement permis l’accroissement du nombre d’individus de cette espèce, mais en plus sa biomasse était plus importante (Taurines et al., 2024).

Cependant, l’effet du BRF est assez neutre pour l’ensemble des espèces ayant colonisé l’aire, notamment les espèces de milieu – voire de fin – de succession, telle que *A. balsamea* (Bakuzis, 1965; Frank, 1990). Cette espèce, tolérante à l’ombre, est sensible à la teneur en eau volumique du sol superficiel lors de sa germination (Bakuzis, 1965; Frank, 1990). Bien que le paillis de BRF ait permis d’augmenter la teneur en eau volumique du substrat, la présence d’espèce herbacée dominante comme *T. farfara*, ainsi que probablement l’importante ouverture canopique ont eu un effet négatif sur la colonisation de cette espèce, éclipasant vraisemblablement l’effet du BRF (Taurines et al., 2024). Ce n’est pas la première fois que l’espèce herbacée *T. farfara* est par ailleurs mentionnée dans la littérature scientifique comme une espèce dont la prolifération est stimulée par l’ouverture canopique et par conséquent a un effet sur la colonisation de *A. balsamea* (Gosse et al., 2011; Hendrickson et al., 2005). Le paillis BRF n’a pas eu l’effet de réduire la compétition pour

les ressources entre les espèces herbacées et les essences, telle que décrit ou suggéré à plusieurs reprises dans la littérature scientifique (Barthès et al., 2010; Germain & Eng, 2007; Robert et al., 2014). De plus, de nombreuses espèces ont colonisé naturellement les roches stériles nues après 5 ans, sans que le BRF semble avoir stimulé leur colonisation.

Le BRF a amélioré les propriétés physiques du substrat, notamment en réduisant le nombre de jours par an où la pression matricielle du substrat était supérieure à 100kPa. En théorie, cela a permis aux espèces végétales une acquisition de l'eau plus importante, tel qu'expliqué dans le CHAPITRE 2. Un facteur limitant dans la colonisation de *P. glauca* était la concentration en K^+ . Cet élément était en concentration importante dans les roches stériles et il semble avoir eu une influence positive sur le nombre d'individus de *P. glauca*.

Finalement, bien que le paillis de BRF semble avoir eu un effet positif sur certaines essences boréales pionnières, il a également permis à certaines espèces herbacées dominantes de s'établir, réduisant le succès de la colonisation des essences et éclipsant d'éventuels effets du BRF sur les propriétés des roches stériles bénéfiques à la colonisation des essences boréales de mi- et fin de succession. Un paillis de BRF améliore principalement les propriétés microclimatiques des roches stériles. Le succès de la colonisation naturelle des roches stériles par les essences boréales peut également être expliqué en partie par la grande proximité de l'aire expérimentale avec la forêt adjacente, permettant une pluie de graine efficace.

6.1.2 Impact de l'apport de matière organique sur la croissance des essences forestières conifères

Le deuxième objectif spécifique avait pour objectif d'évaluer l'impact de l'apport de matière organique sur la croissance des essences forestières conifères plantées directement dans les roches stériles. Il s'agissait de vérifier si les essences de début et de fin de succession réagissaient de manière similaire à un apport de matière organique. L'objectif était également de voir quelle modalité d'apport de matière organique (couche de terre végétale, paillis ou mélange de BRF) facilitait le plus la croissance des individus plantés. Enfin, l'intérêt portait sur les caractéristiques des roches stériles qui avaient été améliorées et qui avaient ainsi facilité la croissance des individus.

Les résultats du travail présenté au CHAPITRE 4 montrent que l'ajout de matière organique sous la forme de terre végétale uniquement favorise la croissance et la survie des individus des deux essences.

De manière générale, l'espèce de début de succession *P. banksiana* a eu un meilleur taux de survie et une meilleure croissance que l'espèce de mi-, voire fin de succession *A. balsamea* (Frank, 1990; Rudolph & Laidly, 1990). *P. banksiana* est une espèce qui a besoin d'une ouverture canopique pour se développer et elle se développe principalement sur des substrats minéraux (Salemaa & Uotila, 2001; Weber et al., 1987). Ce n'est pas le cas de *A. balsamea* qui est une espèce tolérante à l'ombre et qui se développe sous couvert forestier et dans un sol forestier bien développé (Asselin et al., 2001; Raymond et al., 2000).

Le BRF de peuplier, qu'il soit disposé en paillis ou mélangé aux roches stériles n'a eu aucun effet sur la survie ni la croissance des individus des deux espèces. Il est difficile de déterminer ce qui explique que cet apport n'a eu que très peu d'effet sur les propriétés du substrat sans risquer d'extrapoler les résultats obtenus. Cependant, quelques hypothèses peuvent être émises à ce sujet. Notamment, le produit était peut-être trop frais, pas assez décomposé (Lemieux et al., 2000). Il est également possible que la composition du BRF n'ait pas permis de contribuer à l'amélioration du substrat pour les plantes (Barthès et al., 2010). Il est important de préciser aussi que de manière très observatoire lors des travaux de terrain, la colonisation naturelle du substrat minéral (avec ou sans BRF) était très faible, quelques plantules d'érables apparaissaient de manière très sporadique sur le dispositif. Cette observation montre que bien que les roches stériles proviennent d'un même gisement, le succès de la colonisation naturelle de ces substrats n'est pas garanti. Cependant, la durée du suivi du dispositif présenté dans le chapitre 4 était plus courte que celle du dispositif présenté dans les chapitres 3 et 5.

Les conditions de stockage des arbres avant leur plantation ont pu affecter leur développement sur le site par la suite. Le tirage aléatoire de la position des plants a réduit l'impact de leurs conditions de stockage sur la qualité de l'analyse des résultats et sur la façon dont ces résultats répondent aux hypothèses de recherche formulées. Toutefois, il peut s'avérer complexe d'extrapoler les résultats de cette étude aux plantations effectuées par les praticiens et de prédire les performances des arbres soumis à différentes conditions de stockage.

L'arsenic dans les roches stériles a été le facteur limitant dans le milieu concernant la croissance des essences. Il semble que l'arsenic dans les roches stériles de ce dispositif expérimental soit lixiviable, selon de précédents travaux (Kalonji, 2020). Dans la littérature, les concentrations totales en arsenic trouvées dans des aiguilles d'individus ayant poussé dans des rejets similaires excèdent rarement 8 ppm de moyenne (en ANNEXE G). Dans le cas de l'étude présentée au CHAPITRE 4, c'est plus du double, indiquant une forte phytoaccumulation de l'élément. Ce résultat peut sembler préoccupant puisque l'industrie minière aurifère exploite de plus en plus de gisement réfractaire, entraînant une hausse du rejet d'arsenic dans l'environnement (Coudert et al., 2020).

La terre végétale semble avoir eu un effet sur la mobilité de l'arsenic du substrat vers la plante, réduisant la phytotoxicité des roches stériles et facilitant la croissance des arbres. Des travaux de recherche récents sur l'utilisation de tourbe pour le recouvrement des rejets miniers ont montré que la matière organique apportée permettait la réduction de la concentration en arsenic dans des résidus miniers désulfurés, en le rendant plus mobile et lessivable (Rakotonimaro et al., 2021).

Cependant, bien que les plants étaient tous installés sous la surface du substrat minéral, ces résultats sur la phytotoxicité de l'arsenic sont à mettre en perspective avec la distribution relative des racines dans la couche de terre végétale et le substrat minéral pour le traitement à base de terre végétale. Cela n'a pas été mesuré dans ce projet de thèse, mais il est possible qu'une partie des racines des plantes ait colonisé la terre végétale, réduisant les risques de contamination.

La terre végétale a également amélioré la capacité de rétention en eau du substrat, facilitant l'acquisition de l'eau par les plantes. Le traitement a également abaissé le pH, correspondant à un optimum pour le développement des deux espèces conifères plantées (Frank, 1990; Rudolph & Laidly, 1990). Enfin, il a augmenté la concentration en plusieurs nutriments essentiels aux plantes (sauf pour le K^+).

6.1.3 Influence du BRF dans l'établissement des communautés microbiennes et de leur interaction avec les essences forestières boréales

Le troisième objectif spécifique avait pour objectif de connaître l'influence du BRF dans l'établissement des communautés microbiennes et dans leur interaction avec les essences forestières boréales. Plus précisément, le but était de déterminer si le BRF avait un effet sur le

développement des essences boréales en stimulant l'activité microbienne de la rhizosphère. L'intérêt de cet objectif spécifique était également de connaître les propriétés du milieu qui avaient été influencées par le BRF et qui contribuaient au développement des communautés microbiennes.

Les résultats du CHAPITRE 5 montrent que l'ajout d'un paillis de BRF influence la diversité bactérienne, mais assez peu la diversité fongique. Les facteurs qui expliquaient cette influence sur les communautés bactériennes sont la concentration en carbone organique, la concentration en azote et la couverture végétale de l'espèce *P. ceaspitosa*. Ces résultats sont assez similaires à ceux trouvés dans la littérature concernant le développement des communautés bactériennes dans un contexte de succession primaire (Lin et al., 2011; Liu et al., 2020).

Le développement des communautés microbiennes semble avoir été influencé par les propriétés du substrat minéral, comme le pH de celui-ci ou encore sa composition chimique. Cela semble indiquer qu'en contexte de début de succession primaire, les communautés microbiennes se développent selon les conditions du substrat minéral. Cependant, il semble que les communautés bactériennes se développent selon des processus plutôt déterministes, dès l'apport de matière organique et l'arrivée de communautés végétales (Dini-Andreote et al., 2015), car elles sont influencées par les facteurs testés. Malgré un changement au niveau de la disponibilité des ressources et des communautés végétales s'installant dans le milieu, les communautés fongiques, quant à elles, ont plutôt un développement suivant un processus stochastique (Figure 6.1) (Dini-Andreote et al., 2015).

Plusieurs études chronoséquentielles corroborent ces observations de processus de développement plutôt stochastique en début de succession primaire pour les fongiques et plutôt déterministe pour les bactéries (Cutler et al., 2014; Jiang et al., 2021; Tian et al., 2022).

Les conclusions du CHAPITRE 5 sur les types de processus de développement des bactéries et des champignons sont cependant à mettre en perspective avec le fait que les fongiques peuvent développer des réseaux mycorhiziens sur de grandes distances, alors que le développement de communautés bactériennes se fait à des échelles beaucoup plus locales, facteur dont le design expérimental ne tenait pas compte. Il est donc possible que l'écosystème forestier entourant le dispositif expérimental ait influencé les processus de développement des fongiques dans le dispositif expérimental.

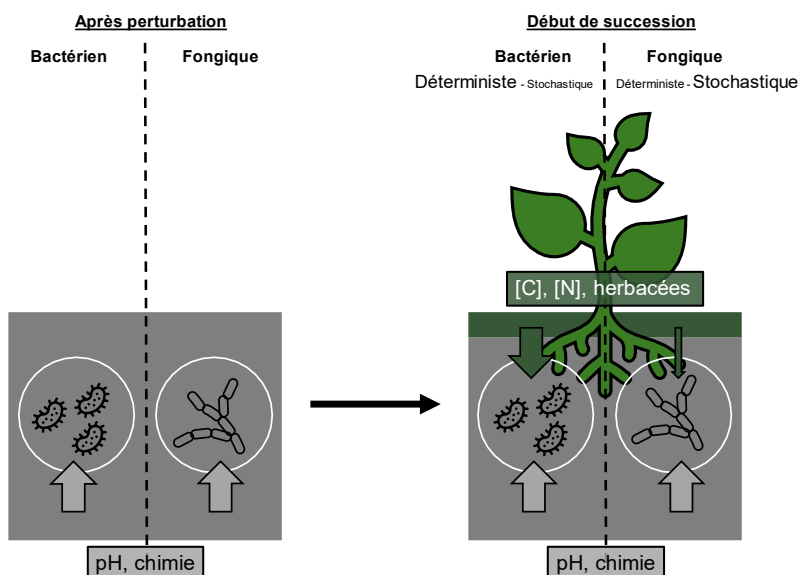


Figure 6.1 Illustration de l'influence des propriétés du milieu dans le développement des communautés microbiennes (bactéries et fongiques). La taille des flèches montre la contribution des propriétés du milieu dans le développement de ces communautés. En gris est représenté le substrat minéral, en brun est représenté l'effet du paillis et des végétaux.

Les résultats indiquent également que le BRF augmente l'abondance relative de certains groupes bactériens fonctionnels pouvant être utiles aux plantes, comme les bactéries fixatrices d'azote, les bactéries capables d'uréolyse, et les bactéries anaérobies chimiohétérotrophes. Ces résultats concordent avec ceux trouvés dans la littérature scientifique récente concernant le paillage des substrats minéraux (Aucina et al., 2015; B. Liu et al., 2023).

Le BRF a favorisé l'abondance de champignons ectomycorhiziens, qui sont connus pour former des symbioses bénéfiques avec entre autres le genre *Pinus*. Ces symbioses sont importantes pour le développement des arbres en fournissant des nutriments essentiels (Aucina et al., 2015; Lunt & Hedger, 2003; Reddell & Milnes, 1992). Il est possible que le BRF contienne déjà un inoculum de fongique et il serait intéressant lors de futurs projets de recherche portant sur le développement des communautés microbiennes avec un paillis de BRF de séquencer les microorganismes déjà présents dans le BRF.

6.2 Limites des travaux de recherche

Les dispositifs expérimentaux utilisés dans cette étude ne permettent pas une comparaison directe entre les différentes approches de végétalisation, à savoir l'approche active par la plantation contrôlée et l'approche passive par la colonisation naturelle, dont les stratégies de restauration écologique sont très différentes. En premier lieu, les critères de succès des deux expériences étaient très différents. Sur le dispositif où était observée la colonisation naturelle des plantes, les réponses des plantes mesurées permettaient d'explorer principalement le développement des communautés végétales, ainsi que la diversité spécifique et l'abondance des essences forestières colonisatrices. Tandis qu'avec l'autre dispositif, les réponses mesurées étaient principalement de l'ordre de la physiologie de l'individu (croissance en hauteur et diamètre, survie). De plus, les caractéristiques des deux substrats de roches stériles étaient absolument différentes, tant concernant leurs caractéristiques physiques (granulométrie et porosité) que concernant leurs caractéristiques chimiques (présence d'une forte concentration d'arsenic, haute concentration en azote). L'aire expérimentale de l'un était plus exposée que l'autre à la pluie de graine de la forêt adjacente, notamment parce que les dispositifs étaient à des altitudes différentes et que la cime des arbres proches des dispositifs n'était pas à la même hauteur. Également, les deux dispositifs n'ont pas été construits la même année, ne permettant pas un suivi aussi long pour l'un comme pour l'autre. Enfin, le type de BRF n'était pas le même : l'un était composé de saule et l'autre de peuplier. Les compositions de ces deux matériaux peuvent expliquer des réponses différentes des plantes.

Il y a des enjeux d'échelle spatiale, plusieurs dispositifs plus petits, répartis sur plusieurs sites, auraient peut-être permis de généraliser certains résultats à l'échelle de la région de l'Abitibi, voire de la province.

Cependant, au-delà des raisons logistiques et financières justifiant le choix des dispositifs conçus pour ce projet doctoral, il est aussi important dans un premier temps de mener des investigations pour des sites individuels, de manière à avoir des données et des caractérisations précises de ces sites, ce qui est difficilement atteignable avec des études à plus larges échelles spatiales (Young 2022).

De la même manière, il est important d'observer en temps réel les processus de succession pour ne pas se reposer uniquement sur les résultats des études chronoséquentielles. L'observation directe

permet de valider ou d'invalider les généralisations formulées à partir de ces études, assurant ainsi une compréhension plus précise et nuancée des dynamiques écologiques sur le terrain.

Comme expliqué précédemment, cette recherche est une étude de cas sur un site individuel. Une des contraintes avec les études sur des sites individuels est la représentativité des aires expérimentales qu'il est possible d'installer sur ces sites. Dans le cas de cette thèse de doctorat, bien que les designs expérimentaux permettent de tenir compte et d'atténuer l'effet de facteurs pouvant affecter la qualité de l'analyse des résultats (comme la pente dans le dispositif des CHAPITRE 3 et CHAPITRE 5), d'autres effets de bords pourraient être considérés si l'on souhaite reproduire l'expérience (proximité de la forêt boréale adjacente au site, ensoleillement du dispositif, etc.).

Ces limites illustrent également la complexité liée à l'approvisionnement en matériaux à un coût raisonnable et à une distance logistique acceptable pour la restauration écologique des rejets miniers dans une région ressource périphérique⁴, comme l'Abitibi-Témiscamingue.

6.3 Implications pratiques

Pour les praticiens, cette thèse offre plusieurs recommandations pratiques pour la végétalisation des aires de roches stériles.

Si l'approche retenue concernant la restauration écologique du substrat de roches stériles est plutôt adaptative et passive :

- Colonisation naturelle : La colonisation naturelle est envisageable lorsqu'un milieu naturel adjacent avec des essences semencières matures est suffisamment proche de l'aire à végétaliser. Cette proximité facilite la pluie de graines et tend à favoriser l'établissement des espèces végétales indigènes.
- Amélioration du substrat : Lorsque la colonisation naturelle est possible, l'amélioration du substrat avec un paillis de BRF, si disponible en volume suffisant et à proximité du site, peut stimuler la colonisation des essences boréales. Le BRF améliorera les conditions microclimatiques, nutritives et microbiologiques du substrat (notamment les bactéries) favorables à la colonisation végétale. Cependant, il est préférable de privilégier l'utilisation

⁴ Qualificatif utilisé par le Gouvernement du Québec pour regrouper l'ensemble des régions de la province éloignées des centres urbains et dont les secteurs d'activités sont principalement tournés vers l'exploitation des ressources naturelles

de mort-terrain, lorsqu'il est conservé correctement, car il offre un substrat plus favorable et conserve un héritage biologique du précédent écosystème (banque de graines, microorganismes, complexe argilohumique, etc.).

- Contrôle des espèces colonisatrices : Selon l'objectif de la mise en végétation, un contrôle des espèces colonisatrices peut être nécessaire. Si l'objectif est de recréer l'écosystème d'origine avant perturbation, il peut être nécessaire de contrôler les espèces dominantes pour favoriser la biodiversité et la trajectoire successionnelle souhaitées. Si l'objectif est une réhabilitation avec une trajectoire successionnelle différente, un développement passif de l'écosystème peut être envisagé, menant à la formation d'un nouvel écosystème. Il est essentiel de consulter la communauté locale pour déterminer l'objectif souhaité pour la mise en végétation du site après exploitation.

Si l'approche retenue concernant la restauration écologique du substrat de roches stériles est plutôt méliorative et active :

- Plantation : La plantation peut être envisagée comme une alternative à l'approche par succession spontanée, bien que coûteuse. Une approche efficace pourrait être la création d'îlots plantés avec amélioration du substrat. Cette méthode pourrait permettre aux essences boréales de s'installer plus rapidement et de créer des zones facilitatrices pour la colonisation naturelle d'autres essences, suivant le principe des espèces facilitatrices (Bouchard et al., 2018).
- Utilisation de la terre végétale : Lorsque disponible, l'utilisation de terre végétale peut réduire les risques de phytotoxicité des roches stériles, en particulier concernant l'arsenic. Bien que coûteuse, cette approche offre des avantages significatifs pour la croissance et la survie des essences plantées.

Le praticien pourrait également opter pour une approche hybride combinant les deux méthodes sous la forme d'une mosaïque de végétalisation, ce qui permettrait de faciliter la végétalisation des roches stériles lorsque leur empreinte spatiale est importante et que la forêt adjacente se situe loin (Bussière & Guittonny, 2020).

6.4 Futures recherches

Pour les raisons évoquées précédemment, il est évident que les résultats observés dans le cadre de ce projet de recherche, mené sous la forme d'une étude de site individuel, nécessitent une

reproduction à des échelles spatiales et temporelles plus vastes. Les futures recherches devraient s'attacher à élargir l'échelle des études pour inclure des multiples sites et des périodes plus longues, permettant ainsi de mieux comprendre la variabilité et la généralisation des résultats obtenus.

Il sera également crucial de reproduire ce type d'expérience en utilisant divers types de BRF et de les comparer à d'autres approches conventionnelles d'amélioration de substrat, telles que l'utilisation de fertilisants, de boues d'épuration, d'autres substrats minéraux et de terre végétale. Cette comparaison permettra de déterminer l'efficacité relative de chaque méthode et de développer des stratégies optimales pour la mise en végétation des roches stériles.

Sélectionner des aires de roches stériles abandonnées, proches les unes des autres et présentant des caractéristiques similaires, pour établir une chronoséquence de la succession primaire sur ces substrats pourrait s'avérer très instructif. La plupart des études de chronoséquences se concentrent sur la succession primaire après des perturbations naturelles, mais très rarement après la formation d'un technosol. Une telle approche offrirait des éléments de réponses sur la dynamique successioneuse spécifique à ce type de milieux anthropisés.

De la même manière, un projet de recherche utilisant des bases de données chronologiques d'imagerie satellite pourrait également permettre l'étude de la succession primaire sur roches stériles. Il serait possible de suivre ainsi l'évolution des peuplements végétaux dans ces milieux et d'identifier les espèces pionnières et les trajectoires successioneuses typiques de ces environnements, tout en tenant compte des changements climatiques globaux.

La réalisation d'une revue systématique, voire une méta-analyse de la littérature scientifique sur la mise en végétation des roches stériles, pourrait aider à élaborer des concepts clés et à généraliser des principes de restauration écologique pour ces rejets miniers. Une telle synthèse de la recherche existante fournirait un cadre théorique solide pour guider les futures interventions de restauration.

Enfin, la reproduction de projets de recherche de grande ampleur sur la microsuccession permettrait de mieux comprendre les mécanismes régissant le développement des communautés microbiennes et leur contribution à la formation des sols sur les dépôts de roches stériles. Ces études pourraient identifier des espèces microbiennes facilitatrices essentielles pour l'établissement des sols et ouvrir la voie à l'inoculation des substrats avec des souches microbiennes spécifiques, optimisant ainsi le processus de restauration écologique.

CHAPITRE 7 CONCLUSION

Cette thèse met d'abord en évidence l'efficacité de la colonisation naturelle et de l'utilisation du paillis de BRF de saule pour la végétalisation des roches stériles. La colonisation naturelle s'avère viable lorsque les aires de roches stériles sont proches de milieux naturels adjacents, facilitant une dispersion efficace des graines et une diversité végétale accrue. Après 5 ans, le paillis de BRF de saule améliore les propriétés microclimatiques des substrats minéraux, favorisant la colonisation des essences de mi-succession comme *Picea glauca*, bien que son effet varie selon les espèces et les conditions environnementales.

Ensuite, les résultats montrent que l'ajout de terre végétale améliore la rétention d'eau des roches stériles, réduit leur phytotoxicité (notamment l'arsenic) et augmente la disponibilité des nutriments, favorisant ainsi la croissance des essences forestières pionnières plantées. Dans des conditions limitantes à cause de la phytotoxicité, un paillis de BRF de peuplier ne facilite pas la croissance des essences forestières directement plantées dans les roches stériles.

Un paillis de BRF de saule favorise également le développement des communautés microbiennes – principalement bactériennes et impliquées dans le cycle de l'azote ou la décomposition de la matière organique – essentielles au développement des communautés végétales et à la formation des sols. Les principales propriétés du substrat qu'à améliorer le paillis de BRF favorisant le développement de ces communautés bactériennes sont essentiellement le pH et la composition chimique du substrat.

Les futures recherches devraient élargir les échelles spatiales et temporelles des études, comparer divers types de BRF avec d'autres méthodes d'amélioration de substrat et étudier de manière innovante la succession primaire. Une revue systématique de la littérature sur la restauration écologique pourrait fournir un cadre pratique pour améliorer les efforts de végétalisation et de restauration des sites miniers perturbés.



Figure 7.1 Image générée par intelligence artificielle avec Dall-E en fournissant dans le prompt le résumé de l'article présenté au CHAPITRE 3.

RÉFÉRENCES

- Abarenkov, K., Henrik Nilsson, R., Larsson, K.-H., Alexander, I. J., Eberhardt, U., Erland, S., Høiland, K., Kjøller, R., Larsson, E., Pennanen, T., Sen, R., Taylor, A. F. S., Tedersoo, L., Ursing, B. M., Vrålstad, T., Liimatainen, K., Peintner, U., & Kõljalg, U. (2010). The UNITE database for molecular identification of fungi – recent updates and future perspectives. *New Phytologist*, 186(2), 281-285. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03160.x>
- Aber, J. D., & Federer, C. A. (1992). A generalized, lumped-parameter model of photosynthesis, evapotranspiration and net primary production in temperate and boreal forest ecosystems. *Oecologia*, 92(4), 463-474. <https://doi.org/10.1007/bf00317837>
- Ahtikoski, A., Tuulentie, S., Hallikainen, V., Nivala, V., Vatanen, E., Tyrväinen, L., & Salminen, H. (2011). Potential Trade-Offs Between Nature-Based Tourism and Forestry, a Case Study in Northern Finland. *Forests*, 2(4), 894-912. <https://doi.org/10.3390/f2040894>
- Allan, R. J. (1995). Impact of Mining Activities on the Terrestrial and Aquatic Environment with Emphasis on Mitigation and Remedial Measures. In U. Förstner, W. Salomons, & P. Mader (Eds.), *Heavy Metals: Problems and Solutions* (pp. 119-140). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-79316-5_8
- Allison, T. D., Art, H. W., Cunningham, F. E., & Teed, R. (2003). Forty-two years of succession following strip clearcutting in a northern hardwoods forest in northwestern Massachusetts. *Forest Ecology and Management*, 182(1), 285-301. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(03\)00066-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(03)00066-5)
- Amos, R. T., Blowes, D. W., Bailey, B. L., Sego, D. C., Smith, L., & Ritchie, A. I. M. (2015). Waste-rock hydrogeology and geochemistry. 57, 140-156. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2014.06.020>
- Anderson, J. D., Ingram, L. J., & Stahl, P. D. (2008). Influence of reclamation management practices on microbial biomass carbon and soil organic carbon accumulation in semiarid mined lands of Wyoming [Article]. *Applied Soil Ecology*, 40(2), 387-397. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.06.008>
- Anderson, M. K., & Barbour, M. G. (2003). Simulated indigenous management: a new model for ecological restoration in national parks. *Ecological Restoration*, 21(4), 269-277. <https://doi.org/10.3368/er.21.4.269>
- Angel, P. N., Graves, D. H., Barton, C., Warner, R. C., Conrad, P. W., Sweigard, R. J., & Agouridis, C. (2006). Surface Mine Reforestation Research: Evaluation of Tree Response to Low Compaction Reclamation Techniques [Conference Paper]. *Journal American Society of Mining and Reclamation*, 2006(2), 45-58. <https://doi.org/10.21000/jasmr06020045>
- Anne Naeth, M., & Wilkinson, S. R. (2014). Establishment of Restoration Trajectories for Upland Tundra Communities on Diamond Mine Wastes in the Canadian Arctic. *Restoration Ecology*, 22(4), 534-543. <https://doi.org/10.1111/rec.12106>

- Aschenbach, T. A., & Poling, M. (2015). Initial Plant Growth in Sand Mine Spoil Amended with Organic Materials. *Ecological Restoration*, 33(2), 197-206. <https://doi.org/10.3368/er.33.2.197>
- Asmara, D. H., Allaire, S., van Noordwijk, M., & Khasa, D. P. (2023). The Effect of Biochar Amendment, Microbiome Inoculation, Crop Mixture and Planting Density on Post-Mining Restoration. *Forests*, 14(4). <https://doi.org/10.3390/f14040856>
- Asselin, H., Fortin, M.-J., & Bergeron, Y. (2001). Spatial distribution of late-successional coniferous species regeneration following disturbance in southwestern Québec boreal forest. *Forest Ecology and Management*, 140(1), 29-37. [https://doi.org/10.1016/s0378-1127\(00\)00273-5](https://doi.org/10.1016/s0378-1127(00)00273-5)
- ASTM. (2007). D854-06: Standard test method for specific gravity of soil solids by water pycnometer: annual book of ASTM standards. In (Vol. 4).
- ASTM. (2015). D1556-07, Standard Test Method for Density and Unit Weight of Soil in Place by the Sand-Cone Method. In. American Society for Testing and Materials.
- ASTM. (2020). D2487-17e1: Standard Practice for Classification of Soils for Engineering Purposes (Unified Soil Classification System). In (pp. 10).
- ASTM. (2022). E3340-22: Standard Guide for Development of Laser Diffraction Particle Size Analysis Methods for Powder Materials. In (pp. 9).
- ASTM. (2023). D854-23: Standard test method for specific gravity of soil solids by water pycnometer: annual book of ASTM standards. In (Vol. 4).
- Atunnisa, R., & Ezawa, T. (2019). Nestedness in Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in a Volcanic Ecosystem: Selection of Disturbance-tolerant Fungi along an Elevation Gradient. *Microbes and environments*, ME19073.
- Aubertin, M., Bussière, B., & Bernier, L. (2002). Environnement et gestion des résidus miniers. *Presses Internationales de Polytechnique, Corporation de l'École Polytechnique de Montréal, Montréal*.
- Aubertin, M., Mbonimpa, M., Bussière, B., & Chapuis, R. (2003). A model to predict the water retention curve from basic geotechnical properties. *Canadian Geotechnical Journal*, 40(6), 1104-1122. <https://doi.org/10.1139/t03-054>
- Aucina, A., Rudawska, M., Leski, T., Skridaila, A., Pasakinskiene, I., & Riepsas, E. (2015). Forest litter as the mulch improving growth and ectomycorrhizal diversity of bare-root Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings. *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 8(4), 394-400. <https://doi.org/10.3832/ifor1083-008>
- Babi, K., Guittonny, M., Bussière, B., & Larocque, G. R. (2023). Effect of soil quality and planting material on the root architecture and the root anchorage of young hybrid poplar plantations on waste rock slopes. *International Journal of Mining, Reclamation and Environment*, 37(1), 1-20. <https://doi.org/10.1080/17480930.2022.2144020>
- Babi, K., Guittonny, M., Larocque, G. R., & Bussière, B. (2018). Effects of spacing and herbaceous hydroseeding on water stress exposure and root development of poplars planted in soil-covered waste rock slopes. *Écoscience*, 26(2), 149-163. <https://doi.org/10.1080/11956860.2018.1538591>

- Bakuzis, E. V. (1965). *Balsam fir: a monographic review*. U of Minnesota Press. <https://doi.org/10.2307/3982783>
- Banning, N. C., Sawada, Y., Phillips, I. R., & Murphy, D. V. (2014). Amendment of bauxite residue sand can alleviate constraints to plant establishment and nutrient cycling capacity in a water-limited environment. *Ecological Engineering*, 62, 179-187. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.10.034>
- Barthès, B. G., Manlay, R. J., & Porte, O. (2010). Effets de l'apport de bois raméal sur la plante et le sol: une revue des résultats expérimentaux. *Cahiers Agricultures*, 19(4), 280-287. <https://doi.org/10.1684/agr.2010.0412>
- Barthes, B. G., Penche, A., Hien, E., Deleporte, P., Clermont-Dauphin, C., Cournac, L., & Manlay, R. J. (2015). Effect of ramial wood amendment on sorghum production and topsoil quality in a Sudano-Sahelian ecosystem (central Burkina Faso). *Agroforestry systems*, 89(1), 81-93. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9743-0>
- Barton, C. D., Sweigard, R. J., Marx, D., & Barton, W. (2008). Evaluating spoil amendment use and mycorrhizal inoculation on reforestation success in the eastern and western kentucky coalfields. 25th Annual Meetings of the American Society of Mining and Reclamation and 10th Meeting of IALR 2008,
- Bastin, J.-F., Finegold, Y., Garcia, C., Mollicone, D., Rezende, M., Routh, D., Zohner, C. M., & Crowther, T. W. (2019). The global tree restoration potential. *Science*, 365(6448), 76-79. <https://doi.org/10.1126/science.aax0848>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of statistical software*, 67(1), 1 - 48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Benjamini, Y., & Braun, H. (2002). John W. Tukey's Contributions to Multiple Comparisons. *The Annals of Statistics*, 30(6), 1576-1594. <http://www.jstor.org/stable/1558730>
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 57(1), 289-300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
- Benjamini, Y., & Yekutieli, D. (2001). The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. *Annals of statistics*, 1165-1188.
- Berendse, F. (1998). Effects of dominant plant species on soils during succession in nutrient-poor ecosystems. *Biogeochemistry*, 42(1-2), 73-88. <https://doi.org/10.1023/A:1005935823525>
- Bergeron, Y. (2000). Species and Stand Dynamics in the Mixed Woods of Quebec's Southern Boreal Forest. *Ecology*, 81(6), 1500-1516. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081\[1500:Sasdit\]2.0.Co;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[1500:Sasdit]2.0.Co;2)
- Bergeron, Y., & Dubue, M. (1988). Succession in the southern part of the Canadian boreal forest. *Vegetatio*, 79(1), 51-63. <https://doi.org/10.1007/BF00044848>
- Best, G. R., Wallace, P. M., Dunn, W. J., & Feiertag, J. A. (1983). Enhancing ecological succession: 4. Growth, density, and species richness of forest communities established from seed on amended overburden soils. University of Kentucky, Office of Engineering Services, (Bulletin) UKY BU,

- Bewley, J. D. (1997). Seed germination and dormancy. *The plant cell*, 9(7), 1055. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.7.1055>
- Bewley, J. D., & Black, M. (2012). *Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination: volume 2: viability, dormancy, and environmental control*. Springer Science & Business Media.
- Bian, Z., Miao, X., Lei, S., Chen, S. E., Wang, W., & Struthers, S. (2012). The challenges of reusing mining and mineral-processing wastes. *Science*, 337(6095), 702-703. <https://doi.org/10.1126/science.1224757>
- Blouin, J., Berger, J.-P., & Gosselin, J. (2002). *Guide de reconnaissance des types écologiques: région écologique 5a plaine de l'Abitibi*. Ministère des ressources naturelles.
- Bockstette, S. W., Pinno, B. D., Dyck, M. F., & Landhäusser, S. M. (2017). Root competition, not soil compaction, restricts access to soil resources for aspen on a reclaimed mine soil. *Botany*, 95(7), 685-695. <https://doi.org/10.1139/cjb-2016-0301>
- Boeraeve, M., Honnay, O., & Jacquemyn, H. (2019). Local abiotic conditions are more important than landscape context for structuring arbuscular mycorrhizal fungal communities in the roots of a forest herb. *Oecologia*, 190(1), 149-157. <https://doi.org/10.1007/s00442-019-04406-z>
- Bokulich, N. A., Kaehler, B. D., Rideout, J. R., Dillon, M., Bolyen, E., Knight, R., Huttley, G. A., & Gregory Caporaso, J. (2018). Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. *Microbiome*, 6(1), 90. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0470-z>
- Bolan, N. S., Kirkham, M. B., & Ok, Y.-S. (2017). *Spoil to soil: mine site rehabilitation and revegetation*. CRC Press.
- Boldt-Burisch, K., & Naeth, M. A. (2017). Early colonization of root associated fungal communities on reclamation substrates at a diamond mine in the Canadian Sub-Arctic. *Applied Soil Ecology*, 110, 118-126. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.10.006>
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., . . . Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol*, 37(8), 852-857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Bonnet, P., Joly, A., Goëau, H., Champ, J., Vignau, C., Molino, J.-F., Barthélémy, D., & Boujemaa, N. (2015). Plant identification: man vs. machine. *Multimedia Tools and Applications*, 75(3), 1647-1665. <https://doi.org/10.1007/s11042-015-2607-4>
- Borkenhagen, A. K., & Cooper, D. J. (2019). Establishing vegetation on a constructed fen in a post-mined landscape in Alberta's oil sands region: A four-year evaluation after species introduction. *Ecological Engineering*, 130, 11-22. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.01.023>

- Bouchard, H., Guittonny, M., & Brais, S. (2018). Early recruitment of boreal forest trees in hybrid poplar plantations of different densities on mine waste rock slopes. *Forest Ecology and Management*, 429, 520-533. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.07.003>
- Bradshaw, A. (1997). Restoration of mined lands—using natural processes. *Ecological Engineering*, 8(4), 255-269. [https://doi.org/10.1016/S0925-8574\(97\)00022-0](https://doi.org/10.1016/S0925-8574(97)00022-0)
- Bradshaw, A. D. (1992). The biology of land restoration. In S. K. Jain & L. W. Botsford (Eds.), *Applied Population Biology* (pp. 25-44). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-0-585-32911-6_2
- Breton, V., Crosaz, Y., & Rey, F. (2016). Effects of wood chip amendments on the revegetation performance of plant species on eroded marly terrains in a Mediterranean mountainous climate (Southern Alps, France). *Solid Earth*, 7(2), 599-610. <https://doi.org/10.5194/se-7-599-2016>
- Brevik, E. C., & Lazari, A. G. (2014). Rates of Pedogenesis in Reclaimed Lands as Compared to Rates of Natural Pedogenesis. *Soil Horizons*, 55(1), sh13-06-0017. <https://doi.org/10.2136/sh13-06-0017>
- Brooks, R. H., & Corey, A. T. (1964). Hydraulic properties of porous medium. *Hydrology Paper*, 3.
- Brunvatne, J. O. (1998). Influence of light quality on the germination of *Betula papyrifera* seeds. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 13(1-4), 324-330. <https://doi.org/10.1080/02827589809382991>
- Buck, M., Straker, C., Mavri-Damelin, D., & Weiersbye, I. (2019). Diversity of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi colonising roots of indigenous *Vachellia* and *Senegalia* trees on gold and uranium mine tailings in South Africa. *South African Journal of Botany*, 121, 34-44. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.10.014>
- Bucka, F. B., Pihlap, E., Kaiser, J., Baumgartl, T., & Kögel-Knabner, I. (2021). A small-scale test for rapid assessment of the soil development potential in post-mining soils. *Soil and Tillage Research*, 211, Article 105016. <https://doi.org/10.1016/j.still.2021.105016>
- Bullied, W. J., Van Acker, R. C., & Bullock, P. R. (2012). Review: Microsite characteristics influencing weed seedling recruitment and implications for recruitment modeling. *Canadian Journal of Plant Science*, 92(4), 627-650. <https://doi.org/10.4141/cjps2011-281>
- Buma, B., Bisbing, S., Krapek, J., & Wright, G. (2017). A foundation of ecology rediscovered: 100 years of succession on the William S. Cooper plots in Glacier Bay, Alaska. *Ecology*, 98(6), 1513-1523. <https://doi.org/10.1002/ecy.1848>
- Burns, R. M. (1990). *Silvics of North America: Conifers*. US Department of Agriculture, Forest Service.
- Bussière, B., & Guittonny, M. (2020). *Hard rock mine reclamation: from prediction to management of acid mine drainage*. CRC press.
- Cabo n, M., Galv nek, D., Detheridge, A. P., Griffith, G. W., Mar kov , S., & Adam  k, S. (2021). Mulching has negative impact on fungal and plant diversity in Slovak oligotrophic grasslands. *Basic and Applied Ecology*, 52, 24-37. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2021.02.007>

- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Campbell, D. J. (1994). Determination and Use of Soil Bulk Density in Relation to Soil Compaction. In B. D. Soane & C. van Ouwerkerk (Eds.), *Soil Compaction in Crop Production* (Vol. 11, pp. 113-139). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-88286-8.50014-3>
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., Fierer, N., Pena, A. G., Goodrich, J. K., & Gordon, J. I. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7(5), 335. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>
- Carlson, C. A., & Ingraham, J. L. (1983). Comparison of denitrification by *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Paracoccus denitrificans*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45(4), 1247-1253. <https://doi.org/10.1128/aem.45.4.1247-1253.1983>
- Carlsson, G., & Huss-Danell, K. (2003). Nitrogen fixation in perennial forage legumes in the field. *Plant and Soil*, 253(2), 353-372. <https://doi.org/10.1023/A:1024847017371>
- Carter, M. R., & Gregorich, E. G. (2007). *Soil sampling and methods of analysis* (Second ed.). CRC press.
- Cassel, D., & Nielsen, D. (1986). *Field capacity and available water capacity* (Vol. 5).
- Caterino, B., Schuler, J. L., Grushecky, S. T., & Skousen, J. (2020). Early growth and survival of shrub willow on newly reclaimed mine soil. *New Forests*, 51(6), 1087-1099. <https://doi.org/10.1007/s11056-020-09776-4>
- Chang, C. C., & Turner, B. L. (2019). Ecological succession in a changing world. *Journal of Ecology*, 107(2), 503-509. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13132>
- Chapin, F. S., Matson, P. A., Mooney, H. A., & Vitousek, P. M. (2002). *Principles of terrestrial ecosystem ecology*.
- Chapin, F. S., Walker, L. R., Fastie, C. L., & Sharman, L. C. (1994). Mechanisms of Primary Succession Following Deglaciation at Glacier Bay, Alaska. *Ecological Monographs*, 64(2), 149-175. <https://doi.org/10.2307/2937039>
- Chapin III, F. S., Matson, P. A., & Vitousek, P. (2011). *Principles of terrestrial ecosystem ecology*. Springer Science & Business Media.
- Chapuis, R. P., Masse, I., Madinier, B., & Aubertin, M. (2007). A drainage column test for determining unsaturated properties of coarse materials. *Geotechnical Testing Journal*, 30(2), 83-89. <https://doi.org/10.1520/GTJ100385>
- Charnock, N. R., & Grant, C. D. (2005). Assessing various rehabilitation strategies for coarse coal washery reject dumps in the Hunter Valley, Australia. I. Chemical characteristics. *International Journal of Surface Mining, Reclamation and Environment*, 19(2), 108-131. <https://doi.org/10.1080/13895260500158077>
- Chen, F., Wang, S., Mou, S., Azimuddin, I., Zhang, D., Pan, X., Al-Misned, F. A., & Mortuza, M. G. (2015). Physiological responses and accumulation of heavy metals and arsenic of

- Medicago sativa* L. growing on acidic copper mine tailings in arid lands. *Journal of Geochemical Exploration*, 157, 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2015.05.011>
- Chen, H. Y., & Popadiouk, R. V. (2002). Dynamics of North American boreal mixedwoods. *Environmental Reviews*, 10(3), 137-166. <https://doi.org/10.1139/a02-007>
- Chen, H. Y., & Taylor, A. R. (2012). A test of ecological succession hypotheses using 55-year time-series data for 361 boreal forest stands. *Global Ecology and Biogeography*, 21(4), 441-454. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00689.x>
- Chen, H. Y. H., Brant, A. N., Seedre, M., Brassard, B. W., & Taylor, A. R. (2017). The Contribution of Litterfall to Net Primary Production During Secondary Succession in the Boreal Forest. *Ecosystems*, 20(4), 830-844. <https://doi.org/10.1007/s10021-016-0063-2>
- Chen, S., Shahi, C., & Chen, H. Y. H. (2016). Economic and ecological trade-off analysis of forest ecosystems: options for boreal forests. *Environmental Reviews*, 24(3), 348-361. <https://doi.org/10.1139/er-2015-0090>
- Chrosciewicz, Z. (1974). Evaluation of Fire-produced Seedbeds for Jack Pine Regeneration in Central Ontario. *Canadian Journal of Forest Research*, 4(4), 455-457. <https://doi.org/10.1139/x74-067>
- Chrosciewicz, Z. (1990). Site Conditions for Jack Pine Seeding. *The Forestry Chronicle*, 66(6), 579-584. <https://doi.org/10.5558/tfc66579-6>
- Cissé, M. K., Keeling, A., Guittonny, M., & Bussière, B. (2023). Integration of Cree traditional ecological knowledge (TEK) into the revegetation process of the Eleonore mine tailings storage facility. *The Extractive Industries and Society*, 14, 101263. <https://doi.org/10.1016/j.exis.2023.101263>
- Clark, L., Pregibon, D., Chambers, J., & Hastie, T. (1992). Tree-Based Models. In *Statistical models in S* (pp. 377-419).
- Clemmensen, K. E., Bahr, A., Ovaskainen, O., Dahlberg, A., Ekblad, A., Wallander, H., Stenlid, J., Finlay, R. D., Wardle, D. A., & Lindahl, B. D. (2013). Roots and Associated Fungi Drive Long-Term Carbon Sequestration in Boreal Forest. *Science*, 339(6127), 1615-1618. <https://doi.org/10.1126/science.1231923>
- Colautti, R. I., & MacIsaac, H. J. (2004). A neutral terminology to define 'invasive' species. *Diversity and Distributions*, 10(2), 135-141. <https://doi.org/10.1111/j.1366-9516.2004.00061.x>
- Cooke, J. A., & Johnson, M. S. (2002). Ecological restoration of land with particular reference to the mining of metals and industrial minerals: A review of theory and practice. *Environmental Reviews*, 10(1), 41-71. <https://doi.org/10.1139/a01-014>
- Coradini, K., Krejčová, J., & Frouz, J. (2022). Potential of vegetation and woodland cover recovery during primary and secondary succession, a global quantitative review. *Land Degradation & Development*, 33(3), 512-526. <https://doi.org/10.1002/ldr.4166>
- Corlett, R. T. (2015). The Anthropocene concept in ecology and conservation. *Trends in ecology & evolution*, 30(1), 36-41. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.10.007>
- Costanza, R., D'Arge, R., De Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R. V., Paruelo, J., Raskin, R. G., Sutton, P., & Van Den Belt, M. (1997). The

- value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387(6630), 253-260. <https://doi.org/10.1038/387253a0>
- Costanza, R., De Groot, R., Sutton, P., Van Der Ploeg, S., Anderson, S. J., Kubiszewski, I., Farber, S., & Turner, R. K. (2014). Changes in the global value of ecosystem services. *Global Environmental Change*, 26, 152-158. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2014.04.002>
- Coudert, L., Bondu, R., Rakotonimaro, T. V., Rosa, E., Guittonny, M., & Neculita, C. M. (2020). Treatment of As-rich mine effluents and produced residues stability: Current knowledge and research priorities for gold mining. *J Hazard Mater*, 386, 121920. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121920>
- Craw, D., & Rufaut, C. (2021). Geocological Zonation of Revegetation Enhances Biodiversity at Historic Mine Sites, Southern New Zealand. *Minerals*, 11(2).
- Cross, A. T., & Lambers, H. (2017). Young calcareous soil chronosequences as a model for ecological restoration on alkaline mine tailings. *Sci Total Environ*, 607-608, 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.005>
- Cross, A. T., Stevens, J. C., Sadler, R., Moreira-Grez, B., Ivanov, D., Zhong, H., Dixon, K. W., & Lambers, H. (2018). Compromised root development constrains the establishment potential of native plants in unamended alkaline post-mining substrates. *Plant and Soil*, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3876-2>
- Cutler, N. A., Chaput, D. L., & van der Gast, C. J. (2014). Long-term changes in soil microbial communities during primary succession. *Soil Biology and Biochemistry*, 69, 359-370. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.11.022>
- Dallaire, K., & Skousen, J. (2019). Early Tree Growth in Reclaimed Mine Soils in Appalachia USA. *Forests*, 10(7), Article 549. <https://doi.org/10.3390/f10070549>
- Dalling, J. W., & Hubbell, S. P. (2002). Seed Size, Growth Rate and Gap Microsite Conditions as Determinants of Recruitment Success for Pioneer Species. *Journal of Ecology*, 90(3), 557-568. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2002.00695.x>
- De Marco, P. J., & Nobrega, C. C. (2018). Evaluating collinearity effects on species distribution models: An approach based on virtual species simulation. *PloS one*, 13(9), e0202403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202403>
- Del Moral, R., Walker, L. R., & Bakker, J. P. (2007). Insights gained from succession for the restoration of landscape structure and function. In *Linking restoration and ecological succession* (pp. 19-44). Springer.
- Del Moral, R., & Wood, D. M. (1993). Early primary succession on the volcano Mount St. Helens. *Journal of Vegetation Science*, 4(2), 223-234. <https://doi.org/10.2307/3236108>
- Diggins, T. P. (2013). A 300-year successional sequence in an eastern United States riparian hardwood forest1. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 140(1), 65-88. <https://doi.org/10.3159/TORREY-D-11-00079.1>
- Dimech, A., Chouteau, M., Martin, V., Aubertin, M., Bussière, B., & Plante, B. (2018). 3D time-lapse geoelectrical monitoring of moisture content in an experimental waste rock pile: Validation using hydrogeological data Symposium on the Application of Geophysics to Engineering and Environmental Problems 2018, <https://doi.org/10.4133/sageep.31-009>

- Dini-Andreote, F., Stegen, J. C., van Elsas, J. D., & Salles, J. F. (2015). Disentangling mechanisms that mediate the balance between stochastic and deterministic processes in microbial succession. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(11), E1326-E1332. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414261112>
- Dold, B. (2017). Acid rock drainage prediction: A critical review. *Journal of Geochemical Exploration*, 172, 120-132. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.09.014>
- Domisch, T., Finér, L., & Lehto, T. (2001). Effects of soil temperature on biomass and carbohydrate allocation in Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings at the beginning of the growing season. *Tree Physiology*, 21(7), 465-472. <https://doi.org/10.1093/treephys/21.7.465>
- Drozdowski, B. L., Anne Naeth, M., & Wilkinson, S. R. (2012). Evaluation of substrate and amendment materials for soil reclamation at a diamond mine in the Northwest Territories, Canada. *Canadian Journal of Soil Science*, 92(1), 77-88. <https://doi.org/10.4141/cjss2011-029>
- Duchaufour, P. (2012). *Pedology: pedogenesis and classification*. Springer Science & Business Media.
- Duchaufour, P., Faivre, P., Poulenard, J., Houot, S., & Gury, M. (2018). *Introduction à la science du sol-7e éd.: Sol, végétation, environnement*. Dunod.
- Dunn, O. J. (1961). Multiple comparisons among means. *Journal of the American Statistical Association*, 56(293), 52-64. <https://doi.org/10.1080/01621459.1961.10482090>
- Dunn, O. J. (1964). Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics*, 6(3), 241-252. <https://doi.org/10.1080/00401706.1964.10490181>
- Durbecq, A., Jaunatre, R., Buisson, E., Cluchier, A., & Bischoff, A. (2020). Identifying reference communities in ecological restoration: the use of environmental conditions driving vegetation composition. *Restoration Ecology*, 28(6), 1445-1453. <https://doi.org/10.1111/rec.13232>
- Edraki, M., Baumgartl, T., Manlapig, E., Bradshaw, D., Franks, D. M., & Moran, C. J. (2014). Designing mine tailings for better environmental, social and economic outcomes: a review of alternative approaches. *Journal of Cleaner Production*, 84, 411-420. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.04.079>
- Elberling, B., Schippers, A., & Sand, W. (2000). Bacterial and chemical oxidation of pyritic mine tailings at low temperatures. *Journal of Contaminant Hydrology*, 41(3-4), 225-238. [https://doi.org/10.1016/S0169-7722\(99\)00085-6](https://doi.org/10.1016/S0169-7722(99)00085-6)
- Elghali, A., Benzaazoua, M., Bussière, B., & Bouzahzah, H. (2019). Determination of the available acid-generating potential of waste rock, part II: Waste management involvement. *Applied Geochemistry*, 100, 316-325. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2018.12.010>
- EPA, U. S. (2007). Method 3051A (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Oils. In. Washington, DC.
- Equiza, M., Calvo-Polanco, M., Cirelli, D., Señorans, J., Wartenbe, M., Saunders, C., & Zwiazek, J. (2017). Long-term impact of road salt (NaCl) on soil and urban trees in Edmonton,

- Canada. *Urban Forestry & Urban Greening*, 21, 16-28. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2016.11.003>
- Eriksson, O., & Ehrlén, J. (1992). Seed and microsite limitation of recruitment in plant populations. *Oecologia*, 91(3), 360-364.
- Espinosa, J., Dejene, T., Fernández, C., Madrigal, J., Aponte, C., & Martín-Pinto, P. (2023). Does helimulching after severe wildfire affect soil fungal diversity and community composition in a Mediterranean ecosystem? *Science of the Total Environment*, 892, 164752. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164752>
- Farooq, M. A., Islam, F., Ali, B., Najeeb, U., Mao, B., Gill, R. A., Yan, G., Siddique, K. H. M., & Zhou, W. (2016). Arsenic toxicity in plants: Cellular and molecular mechanisms of its transport and metabolism. *Environmental and Experimental Botany*, 132, 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.08.004>
- Félix, G. F., Clermont-Dauphin, C., Hien, E., Groot, J. C. J., Penche, A., Barthès, B. G., Manlay, R. J., Tittonell, P., & Cournac, L. (2018). Ramial wood amendments (*Piliostigma reticulatum*) mitigate degradation of tropical soils but do not replenish nutrient exports. *Land Degradation & Development*, 29(8), 2694-2706. <https://doi.org/10.1002/ldr.3033>
- Fickert, T., & Grüniger, F. (2018). High-speed colonization of bare ground—Permanent plot studies on primary succession of plants in recently deglaciated glacier forelands. *Land Degradation & Development*, 29(8), 2668-2680. <https://doi.org/10.1002/ldr.3063>
- Filzmoser, P., Hron, K., & Templ, M. (2018). *Applied compositional data analysis With Worked Examples in R* (1 ed.). Springer Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-96422-5>
- Finnegan, P. M., & Chen, W. (2012). Arsenic Toxicity: The Effects on Plant Metabolism. *Frontiers in Physiology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00182>
- Forbes, B. C., & Jefferies, R. L. (1999). Revegetation of disturbed arctic sites: constraints and applications. *Biological Conservation*, 88(1), 15-24. [https://doi.org/10.1016/s0006-3207\(98\)00095-0](https://doi.org/10.1016/s0006-3207(98)00095-0)
- Fortin Faubert, M., Hijri, M., & Labrecque, M. (2021). Short Rotation Intensive Culture of Willow, Spent Mushroom Substrate and Ramial Chipped Wood for Bioremediation of a Contaminated Site Used for Land Farming Activities of a Former Petrochemical Plant. *Plants*, 10(3).
- Fox, J., & Monette, G. (1992). Generalized collinearity diagnostics. *Journal of the American Statistical Association*, 87(417), 178-183. <https://doi.org/10.1080/01621459.1992.10475190>
- Fox, J., & Weisberg, S. (2018). *An R companion to applied regression*. Sage publications.
- Frank, R. M. (1990). *Abies balsamea* (L.) Mill. balsam fir. In *Silvics of North America* (Vol. 1, pp. 26-35).
- Frerichs, L., Bork, E., Osko, T., & Naeth, M. (2017). Effects of Boreal Well Site Reclamation Practices on Long-Term Planted Spruce and Deciduous Tree Regeneration. *Forests*, 8(6), Article 201. <https://doi.org/10.3390/f8060201>

- Gagnon, A., Fenton, N. J., Sirois, P., & Boucher, J.-F. (2021). Plant Community Diversity at Two Reclaimed Mine Tailing Storage Facilities in Québec, Canada. *Land*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/land10111191>
- Gałecki, A., Burzykowski, T., Gałecki, A., & Burzykowski, T. (2013). *Linear mixed-effects model*. Springer.
- Gann, G. D., McDonald, T., Walder, B., Aronson, J., Nelson, C. R., Jonson, J., Hallett, J. G., Eisenberg, C., Guariguata, M. R., Liu, J., Hua, F., Echeverría, C., Gonzales, E., Shaw, N., Decler, K., & Dixon, K. W. (2019). International principles and standards for the practice of ecological restoration. Second edition. *Restoration Ecology*, 27(S1), S1-S46. <https://doi.org/10.1111/rec.13035>
- Garibaldi, A., & Turner, N. (2004). Cultural keystone species: implications for ecological conservation and restoration. *Ecology and society*, 9(3).
- Gastauer, M., Silva, J. R., Caldeira Junior, C. F., Ramos, S. J., Souza Filho, P. W. M., Furtini Neto, A. E., & Siqueira, J. O. (2018). Mine land rehabilitation: Modern ecological approaches for more sustainable mining. *Journal of Cleaner Production*, 172, 1409-1422. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.223>
- Gause, G. F. (1934). Experimental analysis of Vito Volterra's mathematical theory of the struggle for existence. *Science*, 79(2036), 16-17.
- Gauthier, S., Bernier, P., Kuuluvainen, T., Shvidenko, A. Z., & Schepaschenko, D. G. (2015). Boreal forest health and global change. *Science*, 349(6250), 819-822. <https://doi.org/10.1126/science.aaa9092>
- Ge, G., Li, Z., Fan, F., Chu, G., Hou, Z., & Liang, Y. (2010). Soil biological activity and their seasonal variations in response to long-term application of organic and inorganic fertilizers. *Plant and Soil*, 326(1), 31-44. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0186-8>
- Germain, D., & Eng, P. (2007). *Ramial chipped wood: the clue to a sustainable fertile soil*.
- Giardina, C. P., Litton, C. M., Thaxton, J. M., Cordell, S., Hadway, L. J., & Sandquist, D. R. (2007). Science Driven Restoration: A Candle in a Demon Haunted World—Response to Cabin (2007). *Restoration Ecology*, 15(2), 171-176. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2007.00227.x>
- Gloor, G. B., Macklaim, J. M., Pawlowsky-Glahn, V., & Egozcue, J. J. (2017). Microbiome Datasets Are Compositional: And This Is Not Optional. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02224>
- Gobat, J.-M., Aragno, M., & Matthey, W. (2010). *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols* (Vol. 14). PPUR Presses polytechniques.
- Golos, P. J., Commander, L. E., & Dixon, K. W. (2019). The addition of mine waste rock to topsoil improves microsite potential and seedling emergence from broadcast seeds in an arid environment. *Plant and Soil*, 440(1-2), 71-84.
- Golos, P. J., Merino-Martín, L., Commander, L. E., Elliott, C. P., Williams, M. R., Miller, B. P., Dixon, K., & Stevens, J. (2021). Interactions between soil covers and rainfall affect post-mining plant restoration in a semi-arid Banded Iron Formation. *Ecological Engineering*, 159, 106101. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.106101>

- Gómez-Aparicio, L. (2009). The role of plant interactions in the restoration of degraded ecosystems: a meta-analysis across life-forms and ecosystems. *Journal of Ecology*, 97(6), 1202-1214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01573.x>
- Gosse, J., Hermanutz, L., McLaren, B., Deering, P., & Knight, T. (2011). Degradation of boreal forests by nonnative herbivores in Newfoundland's national parks: Recommendations for ecosystem restoration. *Natural Areas Journal*, 31(4), 331-339. <https://doi.org/10.3375/043.031.0403>
- Gough, C. M., Curtis, P. S., Hardiman, B. S., Scheuermann, C. M., & Bond-Lamberty, B. (2016). Disturbance, complexity, and succession of net ecosystem production in North America's temperate deciduous forests. *Ecosphere*, 7(6), e01375. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1375>
- Gower, S. T., Krankina, O., Olson, R. J., Apps, M., Linder, S., & Wang, C. (2001). Net Primary Production and Carbon Allocation Patterns of Boreal Forest Ecosystems. *Ecological Applications*, 11(5), 1395-1411. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2001\)011\[1395:Nppaca\]2.0.Co;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2001)011[1395:Nppaca]2.0.Co;2)
- Granatstein, D., Wiman, M., Kirby, E., & Mullinix, K. (2008). Sustainability trade-offs in organic orchard floor management. Organic Fruit Conference 873,
- Gray, L., & Kernaghan, G. (2020). Fungal succession during the decomposition of ectomycorrhizal fine roots. *Microbial Ecology*, 79(2), 271-284. <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01418-3>
- Grimond, L., Rivest, D., Bilodeau-Gauthier, S., Khelifa, R., Elferjani, R., & Bélanger, N. (2023). Novel soil reconstruction leads to successful afforestation of a former asbestos mine in southern Quebec, Canada. *New Forests*. <https://doi.org/10.1007/s11056-023-09989-3>
- Guéablé, Y. K., Bezrhoud, Y., Moulay, H., Moughli, L., Hafidi, M., El Gharouss, M., & El Mejahed, K. (2021). New Approach for Mining Site Reclamation Using Alternative Substrate Based on Phosphate Industry By-Product and Sludge Mixture. *Sustainability*, 13(19).
- Guittonny-Larchevêque, M., Meddeb, Y., & Barrette, D. (2016). Can graminoids used for mine tailings revegetation improve substrate structure? *Botany*, 94(11), 1053-1061. <https://doi.org/10.1139/cjb-2016-0015>
- Guittonny-Larchevêque, M., & Lortie, S. (2017). Above-and Belowground Development of a Fast-Growing Willow Planted in Acid-Generating Mine Technosol. *Journal of Environmental Quality*, 46(6), 1462-1471. <https://doi.org/10.2134/jeq2017.03.0128>
- Guittonny, M., Bussière, B., & Pednault, C. (2016). Tree-substrate water relations and root development in tree plantations used for mine tailings reclamation. *Journal of Environmental Quality*, 45(3), 1036-1045. <https://doi.org/10.2134/jeq2015.09.0477>
- Gurka, M. J., Edwards, L. J., Muller, K. E., & Kupper, L. L. (2006). Extending the Box-Cox Transformation to the Linear Mixed Model. *Journal of the Royal Statistical Society Series A: Statistics in Society*, 169(2), 273-288. <https://doi.org/10.1111/j.1467-985X.2005.00391.x>

- Gurung, S. R., Stewart, R. B., Loganathan, P., & Gregg, P. E. H. (1996). Aluminium-organic matter-fluoride interactions during soil development in oxidised mine waste. *Soil Technology*, 9(4), 273-279. [https://doi.org/10.1016/0933-3630\(95\)00042-9](https://doi.org/10.1016/0933-3630(95)00042-9)
- Habiyaremye, J. d. D., Goldmann, K., Reitz, T., Herrmann, S., & Buscot, F. (2020). Tree Root Zone Microbiome: Exploring the Magnitude of Environmental Conditions and Host Tree Impact. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00749>
- Hallett, L. M., Diver, S., Eitzel, M. V., Olson, J. J., Ramage, B. S., Sardinas, H., Statman-Weil, Z., & Suding, K. N. (2013). Do We Practice What We Preach? Goal Setting for Ecological Restoration. *Restoration Ecology*, 21(3), 312-319. <https://doi.org/10.1111/rec.12007>
- Hangs, R. D., Greer, K. J., & Sulewski, C. A. (2004). The effect of interspecific competition on conifer seedling growth and nitrogen availability measured using ion-exchange membranes. *Canadian Journal of Forest Research*, 34(3), 754-761. <https://doi.org/10.1139/x03-229>
- Hart, A. G., Bosley, H., Hooper, C., Perry, J., Sellors-Moore, J., Moore, O., & Goodenough, A. E. (2023). Assessing the accuracy of free automated plant identification applications. *People and Nature*, 5(3), 929-937. <https://doi.org/10.1002/pan3.10460>
- Hattab, N., Motelica-Heino, M., Faure, O., & Bouchardon, J.-L. (2015). Effect of fresh and mature organic amendments on the phytoremediation of technosols contaminated with high concentrations of trace elements. *Journal of Environmental Management*, 159, 37-47. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.05.012>
- Hattab, N., Soubrand, M., Guégan, R., Motelica-Heino, M., Bourrat, X., Faure, O., & Bouchardon, J. L. (2014). Effect of organic amendments on the mobility of trace elements in phytoremediated techno-soils: role of the humic substances. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(17), 10470-10480. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2959-8>
- Hendrickson, C., Bell, T., Butler, K., & Hermanutz, L. (2005). Disturbance-enabled invasion of *Tussilago farfara* (L) in Gros Morne National Park, Newfoundland: Management implications. *Natural Areas Journal*, 25, 263-274.
- Hendry, M. J., Wassenaar, L. I., Barbour, S. L., Schabert, M. S., Birkham, T. K., Fedec, T., & Schmeling, E. E. (2018). Assessing the fate of explosives derived nitrate in mine waste rock dumps using the stable isotopes of oxygen and nitrogen. *Science of the Total Environment*, 640-641, 127-137. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.275>
- Henry, L., & Wickham, H. (2022). purrr: Functional Programming Tools. R package version 0.3.4. In.
- Higgs, E. (2005). The two-culture problem: ecological restoration and the integration of knowledge. *Restoration Ecology*, 13(1), 159-164. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2005.00020.x>
- Hillel, D. (2003). *Introduction to environmental soil physics*. Elsevier.
- Hobbs, R. J., Arico, S., Aronson, J., Baron, J. S., Bridgewater, P., Cramer, V. A., Epstein, P. R., Ewel, J. J., Klink, C. A., & Lugo, A. E. (2006). Novel ecosystems: theoretical and management aspects of the new ecological world order. *Global Ecology and Biogeography*, 15(1), 1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1466-822X.2006.00212.x>

- Hobbs, R. J., Higgs, E., & Harris, J. A. (2009). Novel ecosystems: implications for conservation and restoration. *Trends in ecology & evolution*, 24(11), 599-605. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.05.012>
- Hodge, A., & Fitter, A. H. (2013). Microbial mediation of plant competition and community structure. *Functional Ecology*, 27(4), 865-875. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12002>
- Hollander, M., Wolfe, D. A., & Chicken, E. (2013). *Nonparametric statistical methods*. John Wiley & Sons.
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biom J*, 50(3), 346-363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>
- Hu, Y.-L., Jung, K., Zeng, D.-H., & Chang, S. X. (2013). Nitrogen-and sulfur-deposition-altered soil microbial community functions and enzyme activities in a boreal mixedwood forest in western Canada. *Canadian Journal of Forest Research*, 43(9), 777-784. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2013-0049>
- Hudson-Edwards, K., & Dold, B. (2015). Mine Waste Characterization, Management and Remediation. *Minerals*, 5(1), 82-85. <https://doi.org/10.3390/min5010082>
- Hudson-Edwards, K. A., Jamieson, H. E., & Lottermoser, B. G. (2011). Mine wastes: past, present, future. *Elements*, 7(6), 375-380. <https://doi.org/10.2113/gselements.7.6.375>
- Huebner, L., Fadhil Al-Quraishi, A. M., Branch, O., & Gaznayee, H. A. A. (2022). New approaches: Use of assisted natural succession in revegetation of inhabited arid drylands as alternative to large-scale afforestation. *SN Applied Sciences*, 4(3), 80. <https://doi.org/10.1007/s42452-022-04951-y>
- Hugron, S., Andersen, R., Poulin, M., & Rochefort, L. (2011). Natural plant colonization of borrow pits in boreal forest highlands of eastern Canada. *Botany*, 89(7), 451-465. <https://doi.org/10.1139/b11-036>
- Hunt, J., Honeycutt, C., & Yarborough, D. (2010). Effect of Pine Bark mulch on lowbush blueberry (*vaccinium angustifolium*) water demand. *International Journal of Fruit Science*, 10(4), 390-415. <https://doi.org/10.1080/15538362.2010.530117>
- Huttl, R. F., & Weber, E. (2001). Forest ecosystem development in post-mining landscapes: a case study of the Lusatian lignite district. *Naturwissenschaften*, 88(8), 322-329. <https://doi.org/10.1007/s001140100241>
- Illumina. (2011). Preparing 16S ribosomal RNA gene amplicons for the Illumina MiSeq system. In.
- Illumina. (2013). 16S metagenomic sequencing library preparation. In.
- Infalt, S. B., & Young, T. P. (2008). Forest Restoration in Campgrounds at Kings Canyon National Park, California. *Ecological Restoration*, 26(4), 302-310. <https://doi.org/10.3368/er.26.4.302>
- Ingram, L. J., Stahl, P. D., & Anderson, J. D. (2007). The influence of management practices on microbial and total soil nitrogen. American Society of Mining and Reclamation - 24th National Meetings of the American Society of Mining and Reclamation 2007: 30 Years of SMCRA and Beyond,

- Jacobs, D. F., Oliet, J. A., Aronson, J., Bolte, A., Bullock, J. M., Donoso, P. J., Landhäusser, S. M., Madsen, P., Peng, S., & Rey-Benayas, J. M. (2015). Restoring forests: What constitutes success in the twenty-first century? In: Springer.
- Jamieson, H. E. (2011). Geochemistry and Mineralogy of Solid Mine Waste: Essential Knowledge for Predicting Environmental Impact. *Elements*, 7(6), 381-386. <https://doi.org/10.2113/gselements.7.6.381>
- Jarvis, P., & Slatyer, R. (1970). The role of the mesophyll cell wall in leaf transpiration. *Planta*, 303-322. <https://doi.org/10.1007/BF00386383>
- Jiang, S., Xing, Y., Liu, G., Hu, C., Wang, X., Yan, G., & Wang, Q. (2021). Changes in soil bacterial and fungal community composition and functional groups during the succession of boreal forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 161, 108393. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108393>
- Jiménez, M. N., Fernández-Ondoño, E., Ripoll, M. Á., Castro-Rodríguez, J., Huntsinger, L., & Navarro, F. B. (2016). Stones and organic mulches improve the *Quercus ilex* L. afforestation success under Mediterranean climatic conditions. *Land Degradation & Development*, 27(2), 357-365. <https://doi.org/10.1002/ldr.2250>
- Jonasson, S. (1988). Evaluation of the point intercept method for the estimation of plant biomass. *Oikos*, 101-106. <https://doi.org/10.2307/3565988>
- Jordan, S. N., Mullen, G. J., & Courtney, R. G. (2008). Utilization of spent mushroom compost for the revegetation of lead–zinc tailings: Effects on physico-chemical properties of tailings and growth of *Lolium perenne*. *Bioresource technology*, 99(17), 8125-8129. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.054>
- Juranović Cindrić, I., Zeiner, M., Starčević, A., & Stinger, G. (2018). Metals in pine needles: characterisation of bio-indicators depending on species. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(8), 4339-4346. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2096-x>
- Kabata-Pendias, A. (2010). *Trace Elements in Soils and Plants* (4th ed.). <https://doi.org/10.1201/b10158>
- Kabata-Pendias, A., Dudka, S., & Chlopecka, A. (2017). Background levels and environmental influences on trace metals in soils of the temperate humid zone of Europe. In *Biogeochemistry of trace metals* (pp. 73-96). CRC Press.
- Kaiser, M., & Asefaw Berhe, A. (2014). How does sonication affect the mineral and organic constituents of soil aggregates?—A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 177(4), 479-495. <https://doi.org/10.1002/jpln.201300339>
- Kalliokoski, T., Mäkelä, A., Fronzek, S., Minunno, F., & Peltoniemi, M. (2018). Decomposing sources of uncertainty in climate change projections of boreal forest primary production. *Agricultural and Forest Meteorology*, 262, 192-205. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.06.030>
- Kalonji, A. K. (2020). *Évaluation du comportement hydrogéologique et géochimique de recouvrements faits de matériaux miniers pour contrôler la contamination provenant de*

résidus miniers fortement réactifs [PhD Thesis, Polytechnique Montréal].
<https://publications.polymtl.ca/5488/>

- Kałużka, I. L., & Jagodziński, A. M. (2017). Ectomycorrhizal Fungi: a major player in early succession. In *Mycorrhiza-Function, Diversity, State of the Art* (pp. 187-229). Springer.
- Karaca, O., Cameselle, C., & Reddy, K. R. (2018). Mine tailing disposal sites: contamination problems, remedial options and phytocaps for sustainable remediation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 17, 205-228. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9453-y>
- Kassambara, A. (2023). *rstatix: Pipe-friendly framework for basic statistical tests*. In (Version 0.7.2) [R package]. <https://rpkgs.datanovia.com/rstatix/>
- Kaur, G., Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2014). Pb-inhibited mitotic activity in onion roots involves DNA damage and disruption of oxidative metabolism. *Ecotoxicology*, 23(7), 1292-1304. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1272-0>
- Keddy, P. A. (1992). Assembly and response rules: two goals for predictive community ecology. *Journal of Vegetation Science*, 3(2), 157-164. <https://doi.org/10.2307/3235676>
- Keenan, R. J., & Kimmins, J. P. (1993). The ecological effects of clear-cutting. *Environmental Reviews*, 1(2), 121-144. <https://doi.org/10.1139/a93-010>
- Keenan, R. J., Reams, G. A., Achard, F., De Freitas, J. V., Grainger, A., & Lindquist, E. (2015). Dynamics of global forest area: Results from the FAO Global Forest Resources Assessment 2015. *Forest Ecology and Management*, 352, 9-20. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.06.014>
- Kielak, A. M., Barreto, C. C., Kowalchuk, G. A., van Veen, J. A., & Kuramae, E. E. (2016). The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes. *Front Microbiol*, 7, 744. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00744>
- Klaar, M. J., Kidd, C., Malone, E., Bartlett, R., Pinay, G., Chapin, F. S., & Milner, A. (2015). Vegetation succession in deglaciated landscapes: implications for sediment and landscape stability. *Earth surface processes and Landforms*, 40(8), 1088-1100. <https://doi.org/10.1002/esp.3691>
- Kneller, T., Harris, R. J., Bateman, A., & Muñoz-Rojas, M. (2018). Native-plant amendments and topsoil addition enhance soil function in post-mining arid grasslands. *Science of the Total Environment*, 621, 744-752. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.219>
- Kohout, P., Krüger, C., Janoušková, M., Püschel, D., Frouz, J., & Rydlová, J. (2017). Plant Communities Rather than Soil Properties Structure Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities along Primary Succession on a Mine Spoil. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00719>
- Kolaříková, Z., Kohout, P., Krüger, C., Janoušková, M., Mrnka, L., & Rydlová, J. (2017). Root-associated fungal communities along a primary succession on a mine spoil: Distinct ecological guilds assemble differently. *Soil Biology and Biochemistry*, 113, 143-152. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.06.004>
- Kompała-Bąba, A., Sierka, E., Dyderski, M. K., Bierza, W., Magurno, F., Besenyei, L., Błońska, A., Ryś, K., Jagodziński, A. M., & Woźniak, G. (2020). Do the dominant plant species

- impact the substrate and vegetation composition of post-coal mining spoil heaps? *Ecological Engineering*, 143, 105685. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.105685>
- Krüger, C., Kohout, P., Janoušková, M., Püschel, D., Frouz, J., & Rydlová, J. (2017). Plant communities rather than soil properties structure arbuscular mycorrhizal fungal communities along primary succession on a mine spoil. *Frontiers in Microbiology*, 8, 719. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00719>
- Kumari, S., Ahirwal, J., & Maiti, S. K. (2022). Reclamation of industrial waste dump using grass-legume mixture: An experimental approach to combat land degradation. *Ecological Engineering*, 174, 106443. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2021.106443>
- Kuťáková, E., Mészárošová, L., Baldrian, P., & Münzbergová, Z. (2020). Evaluating the role of biotic and chemical components of plant-soil feedback of primary successional plants. *Biology and Fertility of Soils*, 56(3), 345-358. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01425-z>
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of statistical software*, 82(13), 1 - 26. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
- Lafontaine, G. d., & Payette, S. (2012). How climate and fire disturbances influence contrasted dynamics of *Picea glauca* ecotones at alpine tree lines in atlantic and continental eastern North America. In *Ecotones Between Forest and Grassland* (pp. 299-312). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3797-0_13
- Lahti, M., Aphalo, P. J., Finér, L., Ryyppö, A., Lehto, T., & Mannerkoski, H. (2005). Effects of soil temperature on shoot and root growth and nutrient uptake of 5-year-old Norway spruce seedlings. *Tree Physiology*, 25(1), 115-122. <https://doi.org/10.1093/treephys/25.1.115>
- Lal, R. (2001). Soil degradation by erosion. *Land Degradation & Development*, 12(6), 519-539. <https://doi.org/10.1002/ldr.472>
- Lal, R. (2020). Soil organic matter and water retention. *Agronomy Journal*, 112(5), 3265-3277. <https://doi.org/10.1002/agj2.20282>
- Laliberté, A. C., & Payette, S. (2008). Primary succession of subarctic vegetation and soil on the fast-rising coast of eastern Hudson Bay, Canada. *Journal of Biogeography*, 35(11), 1989-1999. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.01932.x>
- Lambers, H., Chapin III, F. S., & Pons, T. L. (2008). *Plant physiological ecology*. Springer Science & Business Media.
- Langsrud, Ø. (2003). ANOVA for unbalanced data: Use Type II instead of Type III sums of squares. *Statistics and Computing*, 13(2), 163-167. <https://doi.org/10.1023/A:1023260610025>
- Larcheveque, M., Desrochers, A., Bussiere, B., Cartier, H., & David, J. S. (2013). Revegetation of non-Acid-generating, thickened tailings with boreal trees: a greenhouse study. *J Environ Qual*, 42(2), 351-360. <https://doi.org/10.2134/jeq2012.0111>
- Larchevêque, M., Desrochers, A., Bussière, B., & Cimon, D. (2015). Planting trees in soils above non-acid-generating wastes of a boreal gold mine. *Écoscience*, 21(3-4), 217-231. [https://doi.org/10.2980/21-\(3-4\)-3697](https://doi.org/10.2980/21-(3-4)-3697)

- Last, F., Dighton, J., & Mason, P. (1987). Successions of sheathing mycorrhizal fungi. *Trends in ecology & evolution*, 2(6), 157-161. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(87\)90066-8](https://doi.org/10.1016/0169-5347(87)90066-8)
- Last, F., Mason, P., Ingleby, K., & Fleming, L. (1984). Succession of fruitbodies of sheathing mycorrhizal fungi associated with *Betula pendula*. *Forest Ecology and Management*, 9(3), 229-234. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(84\)90050-1](https://doi.org/10.1016/0378-1127(84)90050-1)
- Lauder, J., Chafe, O., & Godfrey, J. (2017). Cadmium uptake and growth of three native California species grown in abandoned mine waste rock. *Ecological Restoration*, 35(3), 210-213. <https://doi.org/10.3368/er.35.3.210>
- Legendre, P., & Legendre, L. (2012). *Numerical ecology*. Elsevier.
- Lemieux, G., Germain, D., & Environnement, H. (2000). *Ramial Chipped Wood: the Clue to a Sustainable Fertile Soil*. Laval University, Coordination Group on Ramial Wood.
- Lenth, R., Singmann, H., Love, J., Buerkner, P., & Herve, M. (2019). Package ‘emmeans’. In
- Lenth, R. V., Bolker, B., Buerkner, P., Giné-Vázquez, I., Herve, M., Jung, M., Love, J., Miguez, F., Riebl, H., & Singmann, H. (2023). *emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means*. In (Version 1.8.9) [R package]. <https://cran.r-project.org/web/packages/emmeans/index.html>
- Levenberg, K. (1944). A method for the solution of certain non-linear problems in least squares. *Quarterly of applied mathematics*, 2(2), 164-168.
- Levin, S. A. (1992). The Problem of Pattern and Scale in Ecology: The Robert H. MacArthur Award Lecture. *Ecology*, 73(6), 1943-1967. <https://doi.org/10.2307/1941447>
- Li, W., Lu, Q., Alharbi, S. A., Soromotin, A. V., Kuzyakov, Y., & Lei, Y. (2023). Plant–soil–microbial interactions mediate vegetation succession in retreating glacial forefields. *Science of the Total Environment*, 873, 162393. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162393>
- Li, Z., Schneider, R. L., Morreale, S. J., Xie, Y., Li, J., Li, C., & Ni, X. (2019). Using woody organic matter amendments to increase water availability and jump-start soil restoration of desertified grassland soils of Ningxia, China. *Land Degradation & Development*, 30(11), 1313-1324. <https://doi.org/10.1002/ldr.3315>
- Libohova, Z., Seybold, C., Wysocki, D., Wills, S., Schoeneberger, P., Williams, C., Lindbo, D., Stott, D., & Owens, P. R. (2018). Reevaluating the effects of soil organic matter and other properties on available water-holding capacity using the National Cooperative Soil Survey Characterization Database. *Journal of Soil and Water Conservation*, 73(4), 411-421. <https://doi.org/10.2489/jswc.73.4.411>
- Lima, H. M. d., & Mendanha, F. O. (2019). Assessment of the effects of vegetational cover on the long-term stability of a waste rock dump. *REM - International Engineering Journal*, 72(4), 667-674. <https://doi.org/10.1590/0370-44672018720176>
- Lin, Y.-T., Jangid, K., Whitman, W. B., Coleman, D. C., & Chiu, C.-Y. (2011). Change in Bacterial Community Structure in Response to Disturbance of Natural Hardwood and Secondary Coniferous Forest Soils in Central Taiwan. *Microbial Ecology*, 61(2), 429-437. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9748-9>

- Lindsey, C., & Sheather, S. (2010). Variable Selection in Linear Regression. *The Stata Journal*, 10(4), 650-669. <https://doi.org/10.1177/1536867X1101000407>
- Liu, B., Dai, Y., Cheng, X., He, X., Bei, Q., Wang, Y., Zhou, Y., Zhu, B., Zhang, K., Tian, X., Duan, M., Xie, X., & Wang, L. (2023). Straw mulch improves soil carbon and nitrogen cycle by mediating microbial community structure and function in the maize field. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1217966>
- Liu, C., Mansoldo, F. R. P., Ijaz, U. Z., Li, C., Cao, Y., Yao, M., & Li, X. (2023). Package 'microeco'. In
- Liu, T., Wu, X., Li, H., Alharbi, H., Wang, J., Dang, P., Chen, X., Kuzyakov, Y., & Yan, W. (2020). Soil organic matter, nitrogen and pH driven change in bacterial community following forest conversion. *Forest Ecology and Management*, 477, 118473. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118473>
- Lorenz, A., Wagner, S., & Tischew, S. (2017). Regeneration ecology of silver birch (*Betula pendula* Roth) on former mining areas as a basis for restoration strategies. *Forstarchiv*, 88(3), 111-124. <https://doi.org/10.4432/0300-4112-88-111>
- Lottermoser, B. G. (2010). *Mine Wastes : Characterization, Treatment and Environmental Impacts* (3 ed.). Springer Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-12419-8>
- Lottermoser, B. G. (2011). Recycling, reuse and rehabilitation of mine wastes. *Elements*, 7(6), 405-410. <https://doi.org/10.2113/gselements.7.6.405>
- Louca, S., Parfrey, L. W., & Doebeli, M. (2016). Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. *Science*, 353(6305), 1272-1277. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4507>
- Ludwig, J. A., Hindley, N., & Barnett, G. (2003). Indicators for monitoring minesite rehabilitation: trends on waste-rock dumps, northern Australia. *Ecological Indicators*, 3(3), 143-153. [https://doi.org/10.1016/s1470-160x\(03\)00038-4](https://doi.org/10.1016/s1470-160x(03)00038-4)
- Luna, L., Miralles, I., Andrenelli, M. C., Gispert, M., Pellegrini, S., Vignozzi, N., & Solé-Benet, A. (2016). Restoration techniques affect soil organic carbon, glomalin and aggregate stability in degraded soils of a semiarid Mediterranean region. *Catena*, 143, 256-264. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.04.013>
- Luna, L., Miralles, I., Lázaro, R., Contreras, S., & Solé-Benet, A. (2018). Effect of soil properties and hydrologic characteristics on plants in a restored calcareous quarry under a transitional arid to semiarid climate. *Ecohydrology*, 11(6), Article e1896. <https://doi.org/10.1002/eco.1896>
- Luna, L., Vignozzi, N., Miralles, I., & Solé-Benet, A. (2018). Organic amendments and mulches modify soil porosity and infiltration in semiarid mine soils. *Land Degradation & Development*, 29(4), 1019-1030. <https://doi.org/10.1002/ldr.2830>
- Lunt, P. H., & Hedger, J. N. (2003). Effects of Organic Enrichment of Mine Spoil on Growth and Nutrient Uptake in Oak Seedlings Inoculated with Selected Ectomycorrhizal Fungi. *Restoration Ecology*, 11(2), 125-130. <https://doi.org/10.1046/j.1526-100X.2003.09968.x>

- Macdonald, S. E., Landhäusser, S. M., Skousen, J., Franklin, J., Frouz, J., Hall, S., Jacobs, D. F., & Quideau, S. (2015). Forest restoration following surface mining disturbance: challenges and solutions. *New Forests*, 46(5-6), 703-732. <https://doi.org/10.1007/s11056-015-9506-4>
- Madejón, P., Caro-Moreno, D., Navarro-Fernández, C. M., Rossini-Oliva, S., & Marañón, T. (2021). Rehabilitation of waste rock piles: Impact of acid drainage on potential toxicity by trace elements in plants and soil. *Journal of Environmental Management*, 280, 111848. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111848>
- Maier, F., van Meerveld, I., Greinwald, K., Gebauer, T., Lustenberger, F., Hartmann, A., & Musso, A. (2020). Effects of soil and vegetation development on surface hydrological properties of moraines in the Swiss Alps. *Catena*, 187, 104353. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2019.104353>
- Maiti, S. K., & Ahirwal, J. (2019). Chapter 3 - Ecological Restoration of Coal Mine Degraded Lands: Topsoil Management, Pedogenesis, Carbon Sequestration, and Mine Pit Limnology. In V. C. Pandey & K. Baudh (Eds.), *Phytomanagement of Polluted Sites* (pp. 83-111). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813912-7.00003-X>
- Maiti, S. K., Bandyopadhyay, S., & Mukhopadhyay, S. (2021). Importance of selection of plant species for successful ecological restoration program in coal mine degraded land. In K. Baudh, J. Korstad, & P. Sharma (Eds.), *Phytorestoration of Abandoned Mining and Oil Drilling Sites* (pp. 325-357). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821200-4.00014-5>
- Makino, A. (2003). Rubisco and nitrogen relationships in rice: leaf photosynthesis and plant growth. *Soil Science and Plant Nutrition*, 49(3), 319-327. <https://doi.org/10.1080/00380768.2003.10410016>
- Mallik, A., & Kravchenko, D. (2016). Black spruce (*Picea mariana*) restoration in Kalmia heath by scarification and microsite mulching. *Forest Ecology and Management*, 362, 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.10.020>
- Marie-Victorin, F. (1944). *Flore laurentienne*. Presses de l'Université de Montréal.
- Marleau, J. (2009). Modelling early plant primary succession on Mount St. Helens. <https://doi.org/10.7939/R30C8P>
- Marleau, J., Jin, Y., Bishop, J., Fagan, W., & Lewis, M. (2011). A stoichiometric model of early plant primary succession. *The American Naturalist*, 177(2), 233-245. <https://doi.org/10.1086/658066>
- Marquardt, D. W. (1963). An Algorithm for Least-Squares Estimation of Nonlinear Parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*, 11(2), 431-441. <https://doi.org/10.1137/0111030>
- Martinez Arbizu, P. (2020). *pairwiseAdonis: Pairwise multilevel comparison using adonis*. In R package version 0.4
- Matinde, E., Simate, G., & Ndlovu, S. (2018). Mining and metallurgical wastes: a review of recycling and re-use practices. *Journal of the Southern African institute of mining and metallurgy*, 118(8), 825-844. <https://doi.org/10.17159/2411-9717/2018/v118n8a5>

- Maynard, D., Paré, D., Thiffault, E., Lafleur, B., Hogg, K., & Kishchuk, B. (2014). How do natural disturbances and human activities affect soils and tree nutrition and growth in the Canadian boreal forest? *Environmental Reviews*, 22(2), 161-178. <https://doi.org/10.1139/er-2013-0057>
- McConkey, T., Bulmer, C., & Sanborn, P. (2012). Effectiveness of five soil reclamation and reforestation techniques on oil and gas well sites in northeastern British Columbia. *Canadian Journal of Soil Science*, 92(1), 165-177. <https://doi.org/10.4141/cjss2010-019>
- McGeehan, S. L. (2009). Impact of Available Nitrogen in Mine Site Revegetation: A Case Study in the Coeur d'Alene (Idaho) Mining District. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 40(1-6), 82-95. <https://doi.org/10.1080/00103620802625484>
- McGrath, D., & Henry, J. (2016). Organic amendments decrease bulk density and improve tree establishment and growth in roadside plantings. *Urban Forestry & Urban Greening*, 20, 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2016.08.015>
- Melillo, J. M., McGuire, A. D., Kicklighter, D. W., Moore, B., Vorosmarty, C. J., & Schloss, A. L. (1993). Global climate change and terrestrial net primary production. *Nature*, 363(6426), 234-240. <https://doi.org/10.1038/363234a0>
- Menkis, A., Burokienė, D., Gaitnieks, T., Uotila, A., Johannesson, H., Rosling, A., Finlay, R. D., Stenlid, J., & Vasaitis, R. (2012). Occurrence and impact of the root-rot biocontrol agent *Phlebiopsis gigantea* on soil fungal communities in *Picea abies* forests of northern Europe. *FEMS Microbiology Ecology*, 81(2), 438-445. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01366.x>
- Miekle, T. W., Barta, L., & Barta, J. P. (1999). Waste rock revegetation: Evaluation of nutrient and biological amendments. Proceedings 16th Annual National Meeting of the American Society for Surface Mining Reclamation, Scottsdale, AZ.
- Milbau, A., Graae, B. J., Shevtsova, A., & Nijs, I. (2009). Effects of a warmer climate on seed germination in the subarctic. *Annals of Botany*, 104(2), 287-296. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp117>
- Morris, E. K., Caruso, T., Buscot, F., Fischer, M., Hancock, C., Maier, T. S., Meiners, T., Müller, C., Obermaier, E., Prati, D., Socher, S. A., Sonnemann, I., Wäschke, N., Wubet, T., Wurst, S., & Rillig, M. C. (2014). Choosing and using diversity indices: insights for ecological applications from the German Biodiversity Exploratories. *Ecology and Evolution*, 4(18), 3514-3524. <https://doi.org/10.1002/ece3.1155>
- Mosseler, A., & Major, J. E. (2022). Clonal variation in coppiced and uncoppiced growth, root sprout stem formation, and biomass partitioning in *Salix interior* on two highly disturbed site types. *Canadian Journal of Forest Research*, 52(2), 148-157. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2021-0025>
- Murcia, C., Aronson, J., Kattan, G. H., Moreno-Mateos, D., Dixon, K., & Simberloff, D. (2014). A critique of the 'novel ecosystem' concept. *Trends in ecology & evolution*, 29(10), 548-553. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.07.006>
- Naeth, M., Bailey, A., Chanasyk, D., & Pluth, D. (1991). Water holding capacity of litter and soil organic matter in mixed prairie and fescue grassland ecosystems of Alberta. *Journal of Range Management*, 44(1), 13-17. <https://doi.org/10.2307/4002630>

- Närhi, P., Middleton, M., Gustavsson, N., Hyvönen, E., Sutinen, M.-L., & Sutinen, R. (2011). Importance of soil calcium for composition of understory vegetation in boreal forests of Finnish Lapland. *Biogeochemistry*, 102(1-3), 239-249. <https://doi.org/10.1007/s10533-010-9437-2>
- Ndayegamiye, A., & Dubé, A. (1986). L'effet De L'incorporation De Matieres Ligneuses Sur L'evolution Des Proprietes Chimiques Du Sol Et Sur La Croissance Des Plantes. *Canadian Journal of Soil Science*, 66(4), 623-631. <https://doi.org/10.4141/cjss86-062>
- Nguyen, N. H., Song, Z., Bates, S. T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J. S., & Kennedy, P. G. (2016). FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 20, 241-248. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.06.006>
- Norton, D. A., Creedy, S., & Keir, D. (2013). Substrate modification for enhanced native forest restoration, Reefton. *Ecological Management & Restoration*, 14(2), 147-150. <https://doi.org/10.1111/emr.12038>
- Nsiah, P. K., & Schaaf, W. (2019). Effect of topsoil stockpiling on soil properties and organic amendments on tree growth during gold mine reclamation in Ghana. *Journal American Society of Mining and Reclamation*. <https://doi.org/10.21000/jasmr19010045>
- O'Neill, M. E., & Mathews, K. L. (2002). Levene Tests of Homogeneity of Variance for General Block and Treatment Designs. *Biometrics*, 58(1), 216-224. <https://doi.org/10.1111/j.0006-341X.2002.00216.x>
- Odum, E. P., & Barrett, G. W. (1971). *Fundamentals of ecology* (Vol. 3). Saunders Philadelphia.
- Ogar, A., Sobczyk, Ł., & Turnau, K. (2015). Effect of combined microbes on plant tolerance to Zn–Pb contaminations. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(23), 19142-19156. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5094-2>
- Oksanen, J., Simpson, G. L., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., De Caceres, M., Durand, S., . . . Weedon, J. (2022). *vegan: Community Ecology Package*. In (Version 2.6-4)
- ONU. (2005). *Millennium Ecosystem, Ecosystems and human well-being*. Island press Washington, DC:
- Ossanna, L. Q. R., Serrano, K., Jennings, L. L., Dillon, J., Maier, R. M., & Neilson, J. W. (2023). Progressive belowground soil development associated with sustainable plant establishment during copper mine waste revegetation. *Applied Soil Ecology*, 186, 104813. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.104813>
- Paktunc, A. D. (1999). Characterization of Mine Wastes for Prediction of Acid Mine Drainage. In J. M. Azcue (Ed.), *Environmental Impacts of Mining Activities: Emphasis on Mitigation and Remedial Measures* (pp. 19-40). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-59891-3_3
- Palarea-Albaladejo, J., & Martín-Fernández, J. A. (2015). zCompositions — R package for multivariate imputation of left-censored data under a compositional approach.

- Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 143, 85-96.
<https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2015.02.019>
- Palarea-Albaladejo, J., & Martín-Fernández, J. A. (2023). *zCompositions: Treatment of Zeros, Left-Censored and Missing Values in Compositional Data Sets*. In (Version 1.5)
- Palmer, M. A., Zedler, J. B., & Falk, D. A. (2016a). Ecological theory and restoration ecology. In *Foundations of restoration ecology* (pp. 3-26). Springer.
- Palmer, M. A., Zedler, J. B., & Falk, D. A. (2016b). *Foundations of restoration ecology*. Island Press.
- Pan, Y., Birdsey, R. A., Fang, J., Houghton, R., Kauppi, P. E., Kurz, W. A., Phillips, O. L., Shvidenko, A., Lewis, S. L., Canadell, J. G., Ciais, P., Jackson, R. B., Pacala, S. W., McGuire, A. D., Piao, S., Rautiainen, A., Sitch, S., & Hayes, D. (2011). A Large and Persistent Carbon Sink in the World's Forests. *Science*, 333(6045), 988-993.
<https://doi.org/10.1126/science.1201609>
- Parada, A. E., Needham, D. M., & Fuhrman, J. A. (2016). Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environmental Microbiology*, 18(5), 1403-1414.
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.13023>
- Parker, L. W., Elkins, N. Z., Aldon, E. R., & Whitford, W. G. (1987). Decomposition and soil biota after reclamation of coal mine spoils in an arid region [Article]. *Biology and Fertility of Soils*, 4(3), 129-135. <https://doi.org/10.1007/bf00256986>
- Parry, M. L., Bellairs, S. M., & Lu, P. (2022). Improved native understorey establishment in mine waste rock in Australia's wet-dry tropics. *Australian Journal of Botany*, 70(3), 248-262.
<https://doi.org/10.1071/BT20174>
- Pavlu, L., Kodešová, R., Fér, M., Nikodem, A., Němec, F., & Prokeš, R. (2021). The impact of various mulch types on soil properties controlling water regime of the Haplic Fluvisol. *Soil and Tillage Research*, 205, 104748. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104748>
- Payette, S., & Filion, L. (1985). White spruce expansion at the tree line and recent climatic change. *Canadian Journal of Forest Research*, 15(1), 241-251. <https://doi.org/10.1139/x85-042>
- Pellegrini, S., García, G., Peñas-Castejon, J. M., Vignozzi, N., & Costantini, E. A. (2016). Pedogenesis in mine tails affects macroporosity, hydrological properties, and pollutant flow. *Catena*, 136, 3-16. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2015.07.027>
- Perala, D. A., & Alm, A. A. (1990a). Regeneration silviculture of birch: A review. *Forest Ecology and Management*, 32(1), 39-77. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(90\)90105-k](https://doi.org/10.1016/0378-1127(90)90105-k)
- Perala, D. A., & Alm, A. A. (1990b). Reproductive ecology of birch: A review. *Forest Ecology and Management*, 32(1), 1-38. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(90\)90104-j](https://doi.org/10.1016/0378-1127(90)90104-j)
- Peralta-Videa, J. R., Lopez, M. L., Narayan, M., Saupe, G., & Gardea-Torresdey, J. (2009). The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: implications for the food chain. *Int J Biochem Cell Biol*, 41(8-9), 1665-1677.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.03.005>

- Phu, T. D., & Gagnon, J. D. (1975). Nutrient–growth relationships in the Grand'Mère white spruce plantations before and after fertilization. *Canadian Journal of Forest Research*, 5(4), 640-648. <https://doi.org/10.1139/x75-090>
- Piovan, M. J., Pratolongo, P., Donath, T. W., Loydi, A., & Eckstein, R. L. (2019). Germination Response to Osmotic Potential, Osmotic Agents, and Temperature of Five Halophytes Occurring along a Salinity Gradient. *International Journal of Plant Sciences*, 180(4), 345-355. <https://doi.org/10.1086/702663>
- Pohjanmies, T., Trivino, M., Le Tortorec, E., Mazziotta, A., Snall, T., & Monkkonen, M. (2017). Impacts of forestry on boreal forests: An ecosystem services perspective [Review]. *Ambio*, 46(7), 743-755. <https://doi.org/10.1007/s13280-017-0919-5>
- Popovic, V., Seslija Jovanovic, D., Miletic, Z., Milovanovic, J., Lucic, A., Rakonjac, L., & Miljkovic, D. (2022). The evaluation of hazardous element content in the needles of the Norway spruce (*Picea abies* L.) that originated from anthropogenic activities in the vicinity of the native habitats. *Environ Monit Assess*, 195(1), 109. <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10732-2>
- Porter, T. M., Smenderovac, E., Morris, D., & Venier, L. (2023). All boreal forest successional stages needed to maintain the full suite of soil biodiversity, community composition, and function following wildfire. *Scientific Reports*, 13(1), 7978. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30732-7>
- Prach, K., Barthä, S., Joyce, C. B., Pyšek, P., Diggelen, R., & Wiegand, G. (2001). The role of spontaneous vegetation succession in ecosystem restoration: A perspective. *Applied Vegetation Science*, 4(1), 111-114. <https://doi.org/10.1111/j.1654-109X.2001.tb00241.x>
- Prach, K., & Hobbs, R. J. (2008). Spontaneous succession versus technical reclamation in the restoration of disturbed sites. *Restoration Ecology*, 16(3), 363-366.
- Prach, K., & Walker, L. R. (2019). Differences between primary and secondary plant succession among biomes of the world. *Journal of Ecology*, 107(2), 510-516. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13078>
- Prach, K., & Walker, L. R. (2020). *Comparative plant succession among terrestrial biomes of the World*. Cambridge University Press.
- Prévost, M. (1997). Effects of scarification on seedbed coverage and natural regeneration after a group seed-tree cutting in a black spruce (*Picea mariana*) stand. *Forest Ecology and Management*, 94(1-3), 219-231. [https://doi.org/10.1016/s0378-1127\(96\)03955-2](https://doi.org/10.1016/s0378-1127(96)03955-2)
- Priem, J., Piwosar, H., & Orr, R. (2022). OpenAlex: A fully-open index of scholarly works, authors, venues, institutions, and concepts. *arXiv preprint arXiv:2205.01833*. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2205.01833>
- Proto, M., & Courtney, R. (2023). Application of organic wastes to subsoil materials can provide sustained soil quality in engineered soil covers for mine tailings rehabilitation: A 7 years study. *Ecological Engineering*, 192, 106971. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2023.106971>

- Qian, P., & Schoenau, J. J. (1994). Assessing nitrogen mineralization from soil organic matter using anion exchange membranes. *Fertilizer research*, 40(2), 143-148. <https://doi.org/10.1007/BF00750099>
- Québec. (2022). *Guide de préparation du plan de réaménagement et de restauration des sites miniers au Québec*. Retrieved from https://mrnf.gouv.qc.ca/wp-content/uploads/GM_restoration_sites_miniers_MERN.pdf
- Loi sur la qualité de l'environnement, (2024a). <https://www.legisquebec.gouv.qc.ca/fr/document/lc/Q-2/>
- Loi sur les mines, (2024b). <https://www.legisquebec.gouv.qc.ca/fr/document/lc/M-13.1>
- Québec, G. d. (2010a). *Normales climatiques du Québec 1981-2010 - Station Mont-Brun (Abitibi-Témiscamingue)*. <https://environnement.gouv.qc.ca/climat/normales/sommaire.asp?cle=7085106>
- Québec, G. d. (2010b). *Programme de surveillance du climat du Québec de 1981 à 2010*. <https://environnement.gouv.qc.ca/climat/normales/index.asp>
- Québec, G. d. (2019). *Forêt Ouverte*. <https://www.foretouverte.gouv.qc.ca/>
- Quesnel, P.-O., & Cote, B. (2009). Prevalence of phosphorus, potassium, and calcium limitations in white spruce across Canada. *Journal of plant nutrition*, 32(8), 1290-1305. <https://doi.org/10.1080/01904160903006002>
- R. (2023). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. In (Version 4.3.1 "Beagle Scouts") R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Radeloff, V. C., Mladenoff, D. J., Guries, R. P., & Boyce, M. S. (2004). Spatial patterns of cone serotiny in *Pinus banksiana* in relation to fire disturbance. *Forest Ecology and Management*, 189(1-3), 133-141. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2003.07.040>
- Rafi, Z. N., & Kazemi, F. (2021). Effects of planting combinations and mulch types on soil moisture and temperature of xeric landscapes. *Urban Forestry & Urban Greening*, 58, 126966. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2020.126966>
- Rakotonimaro, T. V., Guittonny, M., Neculita, C. M., Trépanier, F., & Pépin, G. (2019). Evaluation of Arsenic Leaching Potential in Gold Mine Tailings Amended with Peat and Mine Drainage Treatment Sludge. *Journal of Environmental Quality*, 48(3), 735-745. <https://doi.org/10.2134/jeq2018.11.0392>
- Rakotonimaro, T. V., Guittonny, M., & Neculita, C. M. (2021). Compaction of peat cover over desulfurized gold mine tailings changes: Arsenic speciation and mobility. *Applied Geochemistry*, 128, 104923. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2021.104923>
- Raymond, P., Ruel, J.-C., & Pineau, M. (2000). Effet d'une coupe d'ensemencement et du milieu de germination sur la régénération des sapinières boréales riches de seconde venue du Québec. *The Forestry Chronicle*, 76(4), 643-652. <https://doi.org/10.5558/tfc76643-4>
- Raynal, D. J., Roman, J. R., & Eichenlaub, W. M. (1982). Response of tree seedlings to acid precipitation— I. Effect of substrate acidity on seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 22(3), 377-383. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(82\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0098-8472(82)90030-2)

- Reddell, P., & Milnes, A. R. (1992). Mycorrhizas and Other Specialized Nutrient-Acquisition Strategies: Their Occurrence in Woodland Plants From Kakadu and Their Role in Rehabilitation of Waste Rock Dumps at a Local Uranium Mine. *Australian Journal of Botany*, 40(2), 223-242. <https://doi.org/10.1071/BT9920223>
- Remaury, A., Guittonny, M., & Rickson, J. (2019). The effect of tree planting density on the relative development of weeds and hybrid poplars on revegetated mine slopes vulnerable to erosion. *New Forests*, 50(4), 555-572. <https://doi.org/10.1007/s11056-018-9678-9>
- Rheault, K., Lachance, D., Morency, M.-J., Thiffault, É., Guittonny, M., Isabel, N., Martineau, C., & Séguin, A. (2020). Plant Genotype Influences Physicochemical Properties of Substrate as Well as Bacterial and Fungal Assemblages in the Rhizosphere of Balsam Poplar. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575625>
- Ringe, J. M., & Graves, D. H. (1990). The economics of mycorrhizal inoculations and wood-based mulches in the reforestation of surface mines. *International Journal of Surface Mining, Reclamation and Environment*, 4(2), 47-52. <https://doi.org/10.1080/09208119008944167>
- Rivers, A. R. (2016). *iTag amplicon sequencing for taxonomic identification at JGI*. <https://jgi.doe.gov/wp-content/uploads/2013/05/iTagger-methods.pdf>
- Robbins, J. A., & Matthews, J. A. (2010). Regional variation in successional trajectories and rates of vegetation change on glacier forelands in south-central Norway. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 42(3), 351-361. <https://doi.org/10.1657/1938-4246-42.3.351>
- Robert, N., Tanguy, M., Riss, J., & Gallois, R. (2014). Effects of ramial chipped wood amendments on weed control, soil properties and tomato crop yield.
- Roberts, M. R., & Dong, H. (1993). Effects of soil organic layer removal on regeneration after clear-cutting a northern hardwood stand in New Brunswick. *Canadian Journal of Forest Research*, 23(10), 2093-2100. <https://doi.org/10.1139/x93-261>
- Rossiter, D. G. (2007). Classification of Urban and Industrial Soils in the World Reference Base for Soil Resources (5 pp). *Journal of Soils and Sediments*, 7(2), 96-100. <https://doi.org/10.1065/jss2007.02.208>
- Rudolph, T., & Laidly, P. (1990). *Pinus banksiana* Lamb. jack pine. In *Silvics of North America* (Vol. 1, pp. 280-293).
- Ruel, J. J., & Ayres, M. P. (1996). Variation in temperature responses among populations of *Betula papyrifera*. *Silva Fennica*, 30(2), 145-158. <https://doi.org/10.14214/sf.a9227>
- Rupert Jr, G. (2012). *Simultaneous statistical inference*.
- Rusdinar, Y., Edraki, M., Baumgartl, T., Mulligan, D., & Miller, S. (2013). Long Term Performance of Hydrogeochemical Riverine Mine Tailings Deposition at Freeport Indonesia. 32(1), 56-70. <https://doi.org/10.1007/s10230-012-0212-6>
- Rydgren, K., Halvorsen, R., Töpper, J. P., Auestad, I., Hamre, L. N., Jongejans, E., & Sulavik, J. (2019). Advancing restoration ecology: A new approach to predict time to recovery. *Journal of Applied Ecology*, 56(1), 225-234. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13254>
- Sait, M., Davis Kathryn, E. R., & Janssen Peter, H. (2006). Effect of pH on Isolation and Distribution of Members of Subdivision 1 of the Phylum Acidobacteria Occurring in Soil.

- Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1852-1857.
<https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1852-1857.2006>
- Sakamoto, Y., Ishiguro, M., & Kitagawa, G. (1986). *Akaike information criterion statistics* (Vol. 81).
- Salemaa, M., & Uotila, T. (2001). Seed bank composition and seedling survival in forest soil polluted with heavy metals. *Basic and Applied Ecology*, 2(3), 251-263.
<https://doi.org/10.1078/1439-1791-00055>
- Salih Hasan, B. M., & Abdulazeez, A. M. (2021). A Review of Principal Component Analysis Algorithm for Dimensionality Reduction. *Journal of Soft Computing and Data Mining*, 2(1), 20-30. <https://doi.org/10.30880/jscdm.2021.02.01.003>
- Salmerón, R., García, C., & García, J. (2018). Variance inflation factor and condition number in multiple linear regression. *Journal of statistical computation and simulation*, 88(12), 2365-2384. <https://doi.org/10.1080/00949655.2018.1463376>
- Salonen, V. (1992). Effects of artificial plant cover on plant colonization of a bare peat surface. *Journal of Vegetation Science*, 3(1), 109-112. <https://doi.org/10.2307/3236004>
- Sansom, J., Chanasyk, D., Naeth, M., & Bateman, J. (1998). In situ amelioration of sodic minespoil with chemical amendments and crop management: II. Soil physical properties, soil moisture and plant growth. *Canadian Journal of Soil Science*, 78(4), 667-674.
<https://doi.org/10.4141/s97-018>
- Scholl, D. G., & Miyamoto, S. (1983). Response of alkali sacaton and fourwing saltbush to various amendments on coal mine spoils from northwestern New Mexico. I. Acid spoil [Article]. *Reclamation & Revegetation Research*, 2(3), 227-236.
<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0020850330&partnerID=40&md5=dfe5926b8494468881862c953b829768>
- Seastedt, T. R., Hobbs, R. J., & Suding, K. N. (2008). Management of novel ecosystems: are novel approaches required? *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(10), 547-553.
<https://doi.org/10.1890/070046>
- Seregin, I., & Ivanov, V. (2001). Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian journal of plant physiology*, 48(4), 523-544.
<https://doi.org/10.1023/A:1016719901147>
- Shannon, C. E. (1948). A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal*, 27(3), 379-423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- Sheoran, V., Sheoran, A., & Poonia, P. (2010). Soil reclamation of abandoned mine land by revegetation: a review. *International journal of soil, sediment and water*, 3(2), 13.
- Shin, J. H., Yu, J., Wang, L., Kim, J., & Koh, S.-M. (2019). Investigation of Spectral Variation of Pine Needles as an Indicator of Arsenic Content in Soils. *Minerals*, 9(8).
- Shrestha, R. K., & Lal, R. (2006). Ecosystem carbon budgeting and soil carbon sequestration in reclaimed mine soil. *Environment International*, 32(6), 781-796.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.001>

- Sigler, W. V., Crivii, S., & Zeyer, J. (2002). Bacterial Succession in Glacial Forefield Soils Characterized by Community Structure, Activity and Opportunistic Growth Dynamics. *Microbial Ecology*, 44(4), 306-316. <https://doi.org/10.1007/s00248-002-2025-9>
- Simpson, E. H. (1949). Measurement of Diversity. *Nature*, 163(4148), 688-688. <https://doi.org/10.1038/163688a0>
- Singh, A. N., Raghubanshi, A. S., & Singh, J. S. (2002). Plantations as a tool for mine spoil restoration. *Current Science*, 82(12), 1436-1441. <http://www.jstor.org/stable/24106177>
- Singh, S. B., & Srivastava, P. K. (2020). Bioavailability of arsenic in agricultural soils under the influence of different soil properties. *SN Applied Sciences*, 2(2), 153. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1932-z>
- Soumare, M., Mnkeni, P., & Khouma, M. (2004). Effects of ramial chipped wood and litter compost of *Casuarina equisetifolia* tomato growth and soil properties in Niayes, Senegal. *Biological Agriculture & Horticulture*, 385. <https://doi.org/10.1080/01448765.2002.9754955>
- Sperow, M. (2006). Carbon Sequestration Potential in Reclaimed Mine Sites in Seven East-Central States. *Journal of Environmental Quality*, 35(4), 1428-1438. <https://doi.org/10.2134/jeq2005.0158>
- Stefani, F., Beguin, J., Paré, D., Morency, M.-J., Martineau, C., Fortin, J. A., Thiffault, N., & Séguin, A. (2023). Does wood mulch trigger microbially mediated positive plant-soil feedback in degraded boreal forest sites? A post hoc study. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1122445>
- Stefani, F., Isabel, N., Morency, M.-J., Lamothe, M., Nadeau, S., Lachance, D., Li, E. H., Greer, C., Yergeau, É., & Pinno, B. D. (2018). The impact of reconstructed soils following oil sands exploitation on aspen and its associated belowground microbiome. *Scientific Reports*, 8(1), 1-13.
- Streit, W. R., & Daniel, R. (2017). *Metagenomics*. Springer.
- Sun, W., Ji, B., Khoso, S. A., Tang, H., Liu, R., Wang, L., & Hu, Y. (2018). An extensive review on restoration technologies for mining tailings. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(34), 33911-33925. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3423-y>
- Syed, S. (2012). Recovery of gold from secondary sources—A review. 115-116, 30-51. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2011.12.012>
- Sylvain, Z. A., & Mosseler, A. (2017). Use of shrub willows (*Salix* spp.) to develop soil communities during coal mine restoration. *Canadian Journal of Forest Research*, 47(12), 1687-1694. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2017-0196>
- Synan, H. E., Melfi, M. A., & Tanner, L. H. (2021). Spatial and temporal dynamics of growth of woody plant species (birch and willows) on the foreland of a retreating glacier in southern Iceland. *Ecological Processes*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13717-021-00282-9>
- Tang, M., Gao, X., Wu, P., Li, H., & Zhang, C. (2022). Effects of Living Mulch and Branches Mulching on Soil Moisture, Temperature and Growth of Rain-Fed Jujube Trees. *Plants*, 11(19), 2654. <https://doi.org/10.3390/plants11192654>

- Tardif-Drolet, M., Li, L., Pabst, T., Zagury, G. J., Mermillod-Blondin, R., & Genty, T. (2020). Revue de la réglementation sur la valorisation des résidus miniers hors site au Québec. *Environmental Reviews*(999), 1-13.
- Taurines, S. (2019). *Utilisation de bois raméal fragmenté pour faciliter la colonisation naturelle de stériles miniers par des essences boréales* [MSc thesis, Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue]. <https://depositum.uqat.ca/id/eprint/805>
- Taurines, S., Guittonny, M., & Séguin, A. (2024). Facilitating early boreal forest succession on waste rock using Ramial Chipped Wood mulch: A five-year study. *Forest Ecology and Management*, 561, 121860. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2024.121860>
- Tedersoo, L., Bahram, M., & Zobel, M. (2020). How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, 367(6480), eaba1223. <https://doi.org/10.1126/science.aba1223>
- Templ, M., Hron, K., Filzmoser, P., Facevicova, K., Kynclova, P., Walach, J., Pintar, V., Chen, J., Miksova, D., Meindl, B., Menafoglio, A., Di Blasi, A., Pavone, F., Stefelova, N., Zeni, G., & Wiederkehr, R. (2023). *robCompositions: Compositional Data Analysis*. In (Version 2.4.1)
- Tian, L., Yu, S., Zhang, L., Dong, K., & Feng, B. (2022). Mulching practices manipulate the microbial community diversity and network of root-associated compartments in the Loess Plateau. *Soil and Tillage Research*, 223, 105476. <https://doi.org/10.1016/j.still.2022.105476>
- Tongway, D. J., & Ludwig, J. A. (2011a). Restoration of Mine-Site Tailings Storage Facilities. In D. J. Tongway & J. A. Ludwig (Eds.), *Restoring Disturbed Landscapes: Putting Principles into Practice* (pp. 75-86). Island Press/Center for Resource Economics. https://doi.org/10.5822/978-1-61091-007-1_7
- Tongway, D. J., & Ludwig, J. A. (2011b). Restoration of Mine-Site Waste-Rock Dumps. In D. J. Tongway & J. A. Ludwig (Eds.), *Restoring Disturbed Landscapes* (pp. 65-73). Island Press/Center for Resource Economics. https://doi.org/10.5822/978-1-61091-007-1_6
- Tordoff, G., Baker, A., & Willis, A. (2000). Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. *Chemosphere*, 41(1-2), 219-228. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00414-2](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00414-2)
- Tremblay, J., & Beauchamp, C. J. (1998). Fractionnement de la fertilisation azotée d'appoint à la suite de l'incorporation au sol de bois raméaux fragmentés: modifications de certaines propriétés biologiques et chimiques d'un sol cultivé en pomme de terre. *Canadian Journal of Soil Science*, 78(2), 275-282. <https://doi.org/10.4141/S96-065>
- Tukey, J. W. (1977). *Exploratory data analysis* (Vol. 2). Reading, MA.
- Tycholiz, C., Ferguson, I. J., Sherriff, B. L., Cordeiro, M., Sri Ranjan, R., & Pérez-Flores, M. A. (2016). Geophysical delineation of acidity and salinity in the Central Manitoba gold mine tailings pile, Manitoba, Canada. *Journal of Applied Geophysics*, 131, 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.jappgeo.2016.05.006>
- U.S.EPA. (2007). Method 3051A (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils. In. Washington, DC.

- Uhlířová, E., Šimek, M., & Šantrůčková, H. (2005). Microbial transformation of organic matter in soils of montane grasslands under different management. *Applied Soil Ecology*, 28(3), 225-235. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.08.002>
- Unger, S., Rollins, M., Tietz, A., & Dumais, H. (2021). iNaturalist as an engaging tool for identifying organisms in outdoor activities. *Journal of Biological Education*, 55(5), 537-547. <https://doi.org/10.1080/00219266.2020.1739114>
- Vail, J. A., & Koon, D. L. (1980). *Vegetative responses under different soil amending mulches on western kentucky strip mine spoil* [Conference Paper]. University of Kentucky, Office of Engineering Services, (Bulletin) UKY BU, <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0019267389&partnerID=40&md5=f55bdbb89ea0953e62926ab3f438ba69>
- Van Andel, J., & Aronson, J. (2012). *Restoration ecology: the new frontier*. John Wiley & Sons.
- Van der Burght, L., Stoffel, M., & Bigler, C. (2012). Analysis and modelling of tree succession on a recent rockslide deposit. *Plant Ecology*, 213(1), 35-46. <https://doi.org/10.1007/s11258-011-0004-2>
- Van Der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., & Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11(3), 296-310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>
- van der Ploeg, R. R., Böhm, W., & Kirkham, M. B. (1999). On the Origin of the Theory of Mineral Nutrition of Plants and the Law of the Minimum. *Soil science society of America journal*, 63(5), 1055-1062. <https://doi.org/10.2136/sssaj1999.6351055x>
- Van Genuchten, M. v., Leij, F., & Yates, S. (1991). The RETC code for quantifying the hydraulic functions of unsaturated soils.
- Venables, W., & Ripley, B. (2002). Exploratory multivariate analysis. In *Modern applied statistics with S* (pp. 301-330).
- Wali, M. K. (1999). Ecological succession and the rehabilitation of disturbed terrestrial ecosystems. *Plant and Soil*, 213(1), 195-220. <https://doi.org/10.1023/A:1004475206351>
- Walker, L. R., & del Moral, R. (2001). Primary succession. *e LS*.
- Walker, L. R., & Del Moral, R. (2003). *Primary succession and ecosystem rehabilitation*. Cambridge University Press.
- Walker, L. R., & del Moral, R. (2009a). Lessons from primary succession for restoration of severely damaged habitats. *Applied Vegetation Science*, 12(1), 55-67. <https://doi.org/10.1111/j.1654-109X.2009.01002.x>
- Walker, L. R., & del Moral, R. (2009b). Transition dynamics in succession: implications for rates, trajectories and restoration. *New models for ecosystem dynamics and restoration*, 33-49.
- Walker, L. R., & del Moral, R. (2011). Primary succession. *Encyclopedia of Life Sciences*. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0003181.pub2>
- Walker, L. R., & Powell, E. A. (2001). Soil Water Retention on Gold Mine Surfaces in the Mojave Desert. *Restoration Ecology*, 9(1), 95-103. <https://doi.org/10.1046/j.1526-100x.2001.009001095.x>

- Walker, L. R., Walker, J., & Del Moral, R. (2007). Forging a new alliance between succession and restoration. In *Linking restoration and ecological succession* (pp. 1-18). Springer.
- Walker, L. R., & Wardle, D. A. (2014). Plant succession as an integrator of contrasting ecological time scales. *Trends in ecology & evolution*, 29(9), 504-510. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.07.002>
- Walker, L. R., Zasada, J. C., & Chapin III, F. S. (1986). The role of life history processes in primary succession on an Alaskan floodplain. *Ecology*, 67(5), 1243-1253. <https://doi.org/10.2307/1938680>
- Wang, J., Huang, Y., Beiyuan, J., Wei, X., Qi, J., Wang, L., Fang, F., Liu, J., Cao, J., & Xiao, T. (2022). Thallium and potentially toxic elements distribution in pine needles, tree rings and soils around a pyrite mine and indication for environmental pollution. *Sci Total Environ*, 828, 154346. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154346>
- Wang, P., Liu, J., Han, S., Wang, Y., Duan, Y., Liu, T., Hou, L., Zhang, Z., Li, L., & Lin, Y. (2023). Polyethylene mulching film degrading bacteria within the plastisphere: Co-culture of plastic degrading strains screened by bacterial community succession. *Journal of Hazardous Materials*, 442, 130045. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130045>
- Wang, S., & Mulligan, C. N. (2009). Effect of natural organic matter on arsenic mobilization from mine tailings. *J Hazard Mater*, 168(2-3), 721-726. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.02.088>
- Wang, X., Liu, Y., Zeng, G., Chai, L., Xiao, X., Song, X., & Min, Z. (2008). Pedological characteristics of Mn mine tailings and metal accumulation by native plants. *Chemosphere*, 72(9), 1260-1266. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.05.001>
- Wang, Y., Liu, L., Zhang, J., Li, D., Yu, J., Gao, H., Li, H., & Zhao, Z. (2022). Soil phytoremediation reveals alteration in soil microbial metabolic activities along time gradient of cover crop mulching. *Environmental Research*, 209, 112884. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.112884>
- Weber, M. G., Wagner, C. E. V., & Hummel, M. (1987). Selected Parameters of Fire Behavior and *Pinus banksiana* Lamb. Regeneration in Eastern Ontario. *The Forestry Chronicle*, 63(5), 340-346. <https://doi.org/10.5558/tfc63340-5>
- Wechtler, L., Laval-Gilly, P., Bianconi, O., Walderdorff, L., Bonnefoy, A., Falla-Angel, J., & Henry, S. (2019). Trace metal uptake by native plants growing on a brownfield in France: zinc accumulation by *Tussilago farfara* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(35), 36055-36062. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06892-3>
- Wessman, C. A., Aber, J. D., Peterson, D. L., & Melillo, J. M. (1988). Remote sensing of canopy chemistry and nitrogen cycling in temperate forest ecosystems. *Nature*, 335(6186), 154-156. <https://doi.org/10.1038/335154a0>
- White, L. J., Brözel, V. S., & Subramanian, S. (2015). Isolation of Rhizosphere Bacterial Communities from Soil. *Bio-protocol*, 5(16), e1569. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1569>

- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L. D. A., François, R., Grolemond, G., Hayes, A., Henry, L., & Hester, J. (2019). Welcome to the Tidyverse. *Journal of open source software*, 4(43), 1686. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>
- Winn, A. A. (1985). Effects of Seed Size and Microsite on Seedling Emergence of *Prunella Vulgaris* in Four Habitats. *Journal of Ecology*, 73(3), 831-840. <https://doi.org/10.2307/2260150>
- Wolf, E. C., Rejmánková, E., & Cooper, D. J. (2019). Wood chip soil amendments in restored wetlands affect plant growth by reducing compaction and increasing dissolved phenolics. *Restoration Ecology*, 27(5), 1128-1136. <https://doi.org/10.1111/rec.12942>
- Wong, M. H. (2003). Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50(6), 775-780. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00232-1](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00232-1)
- Wu, S., You, F., Wu, Z., Bond, P., Hall, M., & Huang, L. (2020). Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities across the gradient of alkaline Fe ore tailings, revegetated waste rock to natural soil sites. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07780-x>
- Wurtz, T. L., & Zasada, J. C. (2001). An alternative to clear-cutting in the boreal forest of Alaska: a 27-year study of regeneration after shelterwood harvesting. *Canadian Journal of Forest Research*, 31(6), 999-1011. <https://doi.org/10.1139/x01-014>
- Xie, L., & van Zy, D. (2020). Distinguishing reclamation, revegetation and phytoremediation, and the importance of geochemical processes in the reclamation of sulfidic mine tailings: A review. *Chemosphere*, 126446. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126446>
- Yarda, V. R. D., Lestari, T., & Pratama, D. (2019). Application of Mulch and Palm Oil Waste as Bioremediation Agents in Post Mining Land. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science,
- Yazici, B., & Yolacan, S. (2007). A comparison of various tests of normality. *Journal of statistical computation and simulation*, 77(2), 175-183. <https://doi.org/10.1080/10629360600678310>
- Yilmaz, P., Parfrey, L. W., Yarza, P., Gerken, J., Pruesse, E., Quast, C., Schweer, T., Peplies, J., Ludwig, W., & Glöckner, F. O. (2014). The SILVA and “All-species Living Tree Project (LTP)” taxonomic frameworks. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D643-D648. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1209>
- Yonli, H. H., Sene, G., Sanon, K. B., Dianda, M., & Khasa, D. P. (2022). Senegalia senegal (L.) Britton Response to Microbial and Manure Amendments for the Rehabilitation of Waste Rock Dumps in the Essakane Gold Mining Site, Burkina Faso [Original Research]. *Frontiers in Environmental Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.803009>
- Young, R. E., Gann, G. D., Walder, B., Liu, J., Cui, W., Newton, V., Nelson, C. R., Tashe, N., Jasper, D., Silveira, F. A. O., Carrick, P. J., Häggglund, T., Carlsén, S., & Dixon, K. (2022).

- International principles and standards for the ecological restoration and recovery of mine sites. *Restoration Ecology*, 30(S2), e13771. <https://doi.org/10.1111/rec.13771>
- Yu, P., Sun, Y., Huang, Z., Zhu, F., Sun, Y., & Jiang, L. (2020). The effects of ectomycorrhizal fungi on heavy metals' transport in *Pinus massoniana* and bacteria community in rhizosphere soil in mine tailing area. *J Hazard Mater*, 381, 121203. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121203>
- Zahran Hamdi, H. (1999). Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(4), 968-989. <https://doi.org/10.1128/mmbr.63.4.968-989.1999>
- Zanuzzi, A., Arocena, J., Van Mourik, J., & Cano, A. F. (2009). Amendments with organic and industrial wastes stimulate soil formation in mine tailings as revealed by micromorphology. *Geoderma*, 154(1-2), 69-75. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.09.014>
- Zhang, J., Wu, P., Hao, B., & Yu, Z. (2011). Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the bacterium *Pseudomonas stutzeri* YZN-001. *Bioresource technology*, 102(21), 9866-9869. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.118>
- Zhang, Q., Acuña, J. J., Inostroza, N. G., Mora, M. L., Radic, S., Sadowsky, M. J., & Jorquera, M. A. (2019). Endophytic Bacterial Communities Associated with Roots and Leaves of Plants Growing in Chilean Extreme Environments. *Scientific Reports*, 9(1), 4950. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41160-x>
- Zhang, W.-Q., Fleurial, K., Sherr, I., Vassov, R., & Zwiazek, J. J. (2020). Growth and physiological responses of tree seedlings to oil sands non-segregated tailings. *Environmental Pollution*, 113945. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.113945>

ANNEXE A DÉFINITIONS ET ÉQUATIONS POUR LES PROPRIÉTÉS DU SOL

Masse totale et volume total

La masse totale de l'échantillon de sol est la somme de la masse de la matrice de l'échantillon du sol, de la masse de la solution du sol dans l'échantillon et de la masse de l'atmosphère du sol (souvent négligeable) dans l'échantillon (Hillel, 2003).

$$m_T = m_S + m_W + m_A \quad (A.1)$$

Où m_T est la masse totale de l'échantillon de sol, m_S est la masse de la matrice (masse de la phase solide) de l'échantillon, m_W est la masse de la solution du sol dans l'échantillon (masse de la phase liquide) et m_A est la masse de l'atmosphère du sol (masse de la phase gazeuse) dans l'échantillon.

De même que le volume total d'un échantillon de sol est la résultante de la somme du volume de la matrice et du volume des fluides dans l'échantillon, lui-même résultant de la somme du volume de la solution du sol et du volume de l'atmosphère du sol, dans l'échantillon (Hillel, 2003).

$$V_T = V_S + V_F = V_S + V_W + V_A \quad (A.2)$$

Où V_T est le volume total de l'échantillon de sol, V_S est le volume de la matrice (volume de la phase solide), V_F est le volume des fluides du sol dans l'échantillon, V_W est le volume de la solution du sol (volume de la phase liquide) dans l'échantillon et V_A est le volume de l'atmosphère du sol (volume de la phase gazeuse) dans l'échantillon. Le volume des fluides V_F correspond également au volume des pores dans l'échantillon de sol. On peut à partir de ces simples relations définir quelques outils pour la caractérisation du sol.

Masse volumique de la phase solide

D'abord, on peut définir la masse volumique de la phase solide du sol ρ_S . On l'appelle également densité des solides (Hillel, 2003). Elle est fonction de la composition minéralogique du sol et de la quantité de matière organique dans le sol (Hillel, 2003). Elle s'exprime habituellement en kg.m^{-3} . Elle se définit ainsi :

$$\rho_S = \frac{m_S}{V_S} \quad (A.3)$$

Masse volumique sèche ou masse volumique apparente

On peut également définir la masse volumique sèche ρ_d , appelée par certains auteurs densité sèche ou densité apparente (Hillel, 2003). Elle correspond au quotient de la masse des solides sur le volume total de l'échantillon de sol.

$$\rho_d = \frac{m_S}{V_T} = \frac{m_S}{V_S + V_W + V_A} \quad (A.4)$$

Elle peut être calculée en mesurant le volume de l'échantillon de sol prélevé *in situ* et en pesant l'échantillon sec. Elle s'exprime habituellement en kg.m^{-3} .

Masse volumique totale

On peut aussi calculer la masse volumique apparente du sol ρ_T , ou parfois nommée densité apparente. Il s'agit de la masse volumique totale du sol (Hillel, 2003). Elle correspond au quotient de la somme de la masse des solides et de la masse des liquides de l'échantillon de sol (la masse de l'atmosphère du sol étant négligeable) sur la somme du volume des solides et des fluides de l'échantillon de sol (Hillel, 2003). Elle s'exprime habituellement en kg.m^{-3} .

$$\rho_T = \frac{m_T}{V_T} = \frac{m_S + m_W}{V_S + V_W + V_A} \quad (A.5)$$

Volume massique

On peut calculer le volume massique v_d ou volume spécifique d'un sol. Il s'agit du quotient du volume total de l'échantillon sur la masse des solides (Hillel, 2003). Il est donc l'inverse de la masse volumique sèche (Hillel, 2003). Le volume massique est utile pour évaluer le niveau de compaction d'un sol par exemple.

$$v_d = \frac{V_T}{m_S} = \frac{1}{\rho_d} \quad (A.6)$$

Porosité

La porosité f est un outil intéressant pour évaluer l'espace que prennent les fluides dans un sol. En revanche, la porosité ne donne aucune information concernant la connectivité de cet espace, ni concernant la distribution des pores, ni concernant l'homogénéité ou l'hétérogénéité des pores du sol (Hillel, 2003). Elle se calcule grâce au quotient du volume des fluides V_F sur le volume total V_T (Hillel, 2003).

$$f = \frac{V_F}{V_T} = \frac{V_W + V_A}{V_S + V_W + V_A} \quad (\text{A. 7})$$

Ou encore, elle peut être calculée à partir de la masse volumique de la phase solide ρ_S et de la masse volumique sèche ρ_d .

$$f = \frac{\rho_S - \rho_d}{\rho_S} = 1 - \frac{\rho_d}{\rho_S} \quad (\text{A. 8})$$

La porosité peut jouer un rôle crucial dans l'établissement des plantes, notamment dans la disponibilité de l'eau pour les plantes, comme nous le verrons dans le chapitre suivant.

Taux des vides

Il existe enfin le taux des vides e qui correspond au rapport du volume occupé par les fluides au volume occupé par les solides (Hillel, 2003). Cela donne un outil intéressant pour comparer rapidement la fraction des pores par rapport à celle des solides (Hillel, 2003). Le taux des vides est généralement moins utilisé que la porosité par les agronomes.

$$e = \frac{V_F}{V_S} \quad (\text{A. 9})$$

Poids volumique sec ou densité sèche

Le poids volumique apparent sec (ou densité sèche) γ_d correspond au quotient du poids des solides W_s sur le volume total V_T (Bussière & Guittonny, 2020). Il s'exprime en N.m^{-3} .

$$\gamma_d = \frac{W_s}{V_T} \quad (\text{A. 10})$$

Teneur en eau massique

On peut calculer la teneur en eau massique d'un sol, à partir d'un échantillon. Dans ce cas il faut obtenir la masse de l'échantillon du sol humide m_h , réaliser un séchage à l'étuve à 62°C durant au moins 48h (ou à 105°C pendant 24h) et obtenir la masse sèche de cet échantillon m_s . Par la suite, on peut alors calculer la teneur en eau massique du sol, selon la formule suivante (Hillel, 2003) :

$$w = \frac{m_h - m_s}{m_s} \quad (A. 11)$$

La teneur en eau massique s'exprime habituellement en kg.kg^{-1} ou en g.g^{-1}

Teneur en eau volumique

La teneur en eau volumique correspond au volume d'eau V_w sur le volume total V_T d'un échantillon de sol et peut donc se calculer de la façon suivante (Hillel, 2003) :

$$\theta = \frac{V_w}{V_T} \quad (A. 12)$$

La teneur en eau volumique θ peut se déduire également de la manière suivante (Bussière & Guittonny, 2020):

$$\theta = w \frac{\rho_d}{\rho_w} \quad (A. 13)$$

Où ρ_w correspond à la masse volumique de l'eau (correspondant approximativement à 1 kg.m^{-3}).

La teneur en eau volumique d'un sol s'exprime en $\text{m}^3.\text{m}^{-3}$.

ANNEXE B MÉTHODE POUR ÉTABLIR UNE COURBE DE RÉTENTION EN EAU EXPÉRIMENTALE SUR DES MATÉRIAUX GROSSIERS

Pour établir la relation entre la teneur en eau volumique θ du sol et le potentiel hydrique Ψ , il est possible de mesurer les valeurs correspondantes de Ψ et de θ à l'aide d'une méthode d'essai en colonne afin d'obtenir la courbe de rétention d'eau du sol (Chapuis, Masse, Madinier, & Aubertin, 2007). Cette méthode est notamment utilisée lorsque les matériaux composant le sol ont des propriétés hydrogéologiques difficiles à prédire à partir des propriétés géophysiques de base (Chapuis et al., 2007). Une colonne peut être utilisée pour obtenir les mesures de la teneur en eau massique (w) en suivant un gradient de succion de l'eau (élévation, en cmH₂O) du matériau dans la colonne. La masse utilisée de matériau, le volume de la colonne sont définis à partir de la distribution granulométrique du matériau composant le sol. Plus le matériau a une granulométrie grossière, plus la colonne doit avoir un diamètre large et la masse de matériau doit être importante.

Un échantillon du matériau est alors homogénéisé et séché. Le matériau est ensuite placé dans la colonne pour en remplir le volume tout en le tassant afin de tenir compte de la masse volumique apparente mesurée *in situ*. La masse totale est alors mesurée. L'échantillon dans la colonne est saturé d'eau désionisée par mouillage progressif à partir du bas de la colonne. Une fois la saturation atteinte, l'échantillon repose pendant 24 heures à saturation pour libérer toutes les bulles d'air qui auraient pu se former dans la porosité du matériau. Une désaturation de l'échantillon est ensuite effectuée, en laissant l'eau s'évacuer par le bas de la colonne pendant 24 heures. L'échantillon est retiré en plusieurs tranches de matériau de hauteurs identiques afin d'obtenir un volume identique pour chaque sous-échantillon (tranches de colonnes). Les sous-échantillons sont placés dans une étuve pendant 48 heures à 60°C pour sécher.

La masse de chaque sous-échantillon est mesurée avant et après le séchage pour connaître la masse d'eau évaporée (m_w) et la masse séchée du sous-échantillon (m_d). La teneur en eau massique (w) peut ainsi être obtenue (Eq B.2). Ensuite, une conversion en teneur en eau volumétrique (θ) (Eq B.3) a été possible en multipliant la teneur en eau massique (w) par la masse volumique apparente (ρ_d) (Eq B.1) du sous-échantillon. La succion matricielle (Ψ) correspondant à la hauteur entre le bas de la colonne et le point le plus bas de la tranche du sous-échantillon a été convertie de mètres d'eau en kPa (1 mH₂O = 9,8064 KPa).

$$\rho_d = \frac{m_d}{V_T} \quad (B.1)$$

$$w = \frac{m_w}{m_d} = \frac{\rho_w \times V_w}{m_d} \quad (B.2)$$

$$\theta = \frac{V_w}{V_T} = \frac{V_w}{\frac{m_d}{\rho_d}} = \frac{V_w}{m_d} \times \rho_d = w \times \rho_d \quad (B.3)$$

Où m_d est la masse séchée de l'échantillon, V_T est le volume total de l'échantillon, ρ_w est la masse volumique de l'eau ($\approx 1 \text{ g.cm}^{-3}$) et V_w est le volume d'eau dans l'échantillon avant séchage.

Une courbe de rétention d'eau du sol peut être ajustée selon l'équation de Van Genuchten sur les données observées. Par ordinateur avec le logiciel R, il est possible d'utiliser le package *minpack.lm* et la fonction *nlsLM()* pour estimer les paramètres θ_s , θ_r , α et n de l'équation de Van Genuchten (Eq B.4) avec une approche d'optimisation par les moindres carrés, en utilisant l'algorithme de résolution numérique de Levenberg-Marquardt (Clark et al., 1992; Levenberg, 1944; Marquardt, 1963; Van Genuchten et al., 1991). Le code R développé dans le cadre de cette thèse pour ajuster la courbe de rétention en eau sur les valeurs observées est disponible à l'adresse suivante : <https://github.com/gaussdarwin/vgswrc1>.

$$\theta(\Psi) = \frac{\theta_r + (\theta_s - \theta_r)}{[1 + (\alpha\Psi)^n]^{1-\frac{1}{n}}} \quad (B.4)$$

Où θ est la teneur en eau volumétrique du matériau, θ_r est la teneur en eau volumétrique résiduelle, θ_s est la teneur en eau volumétrique saturée, Ψ est la succion matricielle, α et n sont des paramètres d'ajustement du modèle (Bussière & Guittonny, 2020 ; M. T. Van Genuchten, 1980).

Pour un matériau très grossier, on peut utiliser l'équation de Brooks et Corey :

$$\begin{cases} \theta = \theta_r \text{ pour } \Psi \leq \Psi_a \\ \theta = \theta_r + (\theta_s - \theta_r) \left(\frac{\Psi_a}{\Psi} \right)^\lambda \text{ pour } \Psi > \Psi_a \end{cases} \quad (B.5)$$

Où θ est la teneur en eau volumétrique du matériau, θ_r est la teneur en eau volumétrique résiduelle, θ_s est la teneur en eau volumétrique saturée, Ψ est la succion matricielle, Ψ_a est la succion matricielle à la valeur d'entrée d'air du matériau et λ un indice de porosité relié à la distribution de porosité du sol (Brooks & Corey, 1964; Bussière & Guitttonny, 2020).

Pour obtenir une courbe de rétention d'eau d'un matériau fin (comme un sable), on peut utiliser la méthode de prédiction de Kovaks modifiée à partir de 3 propriétés physiques du matériau : les paramètres de distribution granulométrique (d_{10} et d_{60}), la masse volumique apparente in situ (ρ) et la densité spécifique (G_s) (Aubertin et al., 2003; Bussière & Guitttonny, 2020). La densité G_s est obtenue à l'aide d'un pycnomètre à hélium (ASTM, 2023).

ANNEXE C PROTOCOLE STABILITÉ DES AGRÉGATS

- Objectifs

Connaître la stabilité des agrégats d'un sol permet de déterminer la qualité de ce sol. Une agrégation importante et stable des matières minérale et organique d'un sol est souvent reliée à la fertilité du substrat pour les plantes.

- Définitions et concepts

- Agrégats

Les agrégats peuvent être de deux types : micro-agrégats et macro-agrégats (Duchaufour et al., 2018). L'agrégation des particules solides est le résultat de plusieurs facteurs biologiques, chimiques et physiques (Duchaufour et al., 2018). La micro-agrégation est possible grâce à la formation d'un complexe argilo-humique, entre autres (Duchaufour et al., 2018).

- Complexe argilo-humique

Le complexe argilo-humique est une association entre les argiles minéralogiques du sol et les composés humiques (sous-produits de la décomposition de la matière organique dans le sol) (Hillel, 2003). Les liaisons entre argiles et composés humiques sont électrostatiques et résultent d'une réaction d'adsorption (Duchaufour et al., 2018; Hillel, 2003). Les feuillets d'argiles sont chargés négativement, tout comme les composés humiques (Hillel, 2003). Leur liaison va se faire par l'intermédiaire d'un ligand chargé doublement positivement (ex : Ca^{2+}) (Hillel, 2003). La capacité d'échange cationique d'un sol peut justement être un bon indicateur de la capacité d'un sol à s'agréger (Duchaufour et al., 2018).

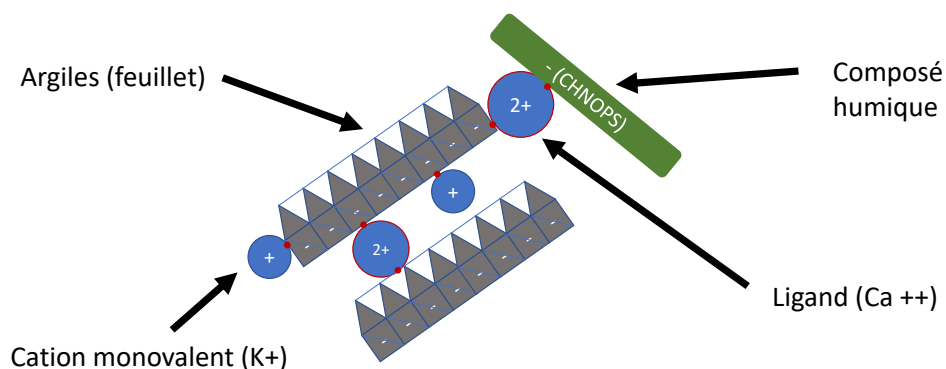


Figure C.1 Schéma conceptuel du complexe argilo-humique

La présence de Fe, d'Al ou encore de Zn dans un matériau minéral peut conduire à la formation d'un feuillet d'argile par altération de la matière minérale (Hillel, 2003). Les éléments C, H, N, O, P et S sont essentiels à la survie et la croissance des plantes et des organismes présents dans le sol. Ils composent les macronutriments (Duchaufour et al., 2018).

○ Stabilité de l'agrégation

La micro-agrégation est essentiellement chimique et les particules sont souvent faiblement liées entre elles (Duchaufour et al., 2018).

L'agrégation peut également être provoquée mécaniquement par la compaction du matériau, par tension superficielle ou par le gel. Une agrégation formée par ces mécanismes est facilement désagrégeable (Duchaufour et al., 2018; Hillel, 2003).

En revanche, la macro-agrégation est liée à des processus biologiques et les liaisons y sont plus fortes (Duchaufour et al., 2018). Les processus biologiques impliqués peuvent être :

- Une agrégation liée aux microorganismes du sol, bactéries et champignons produisant respectivement mucus et hyphes liant les particules du sol entre elles,
- Une agrégation liée à la faune du sol, comme les collemboles et les vers de terre, participant à la dégradation de la matière organique fraîche, la déplaçant et la mélangeant à la matière minérale,
- Une agrégation liée au système racinaire, notamment par l'action des poils absorbants, des exsudats racinaires et du mucilage autour des racines.

La stabilité des agrégats est donc un bon indicateur de la vie d'un sol.

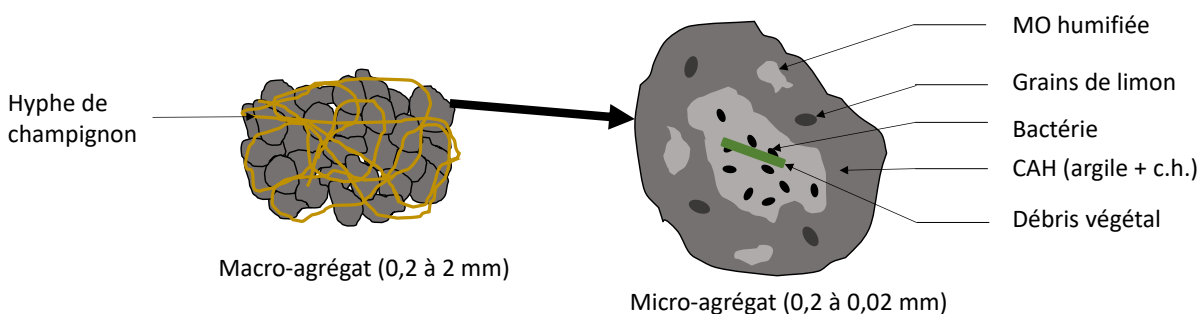


Figure C.2 Différences entre macro- et micro-agrégats

- Matériel

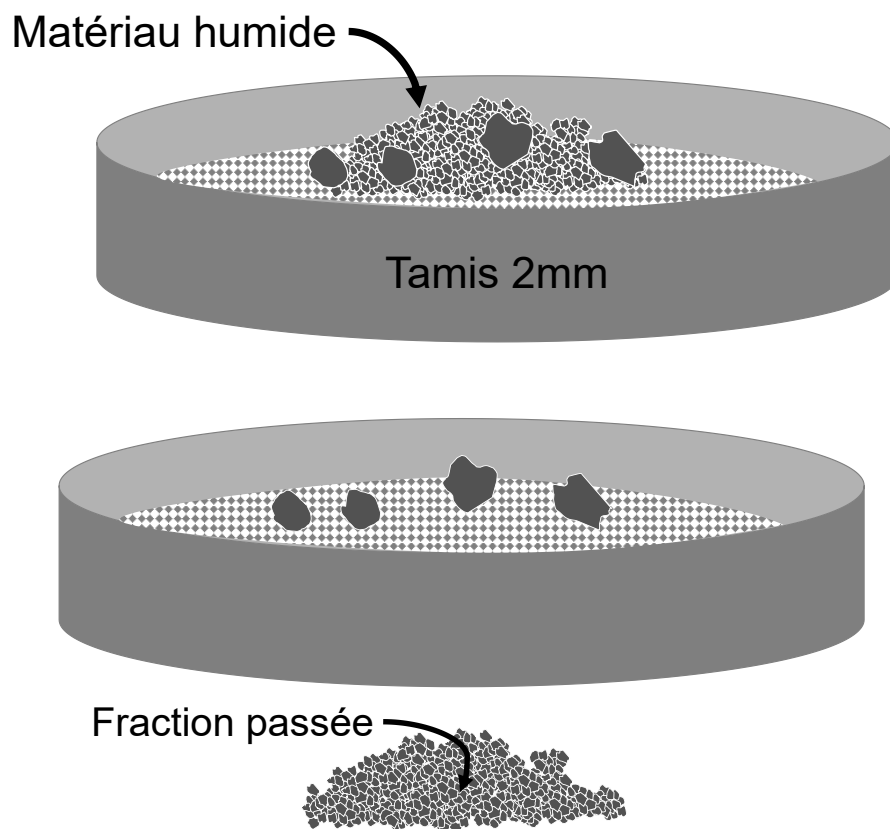
- ☐ Tamis pour tamisage humide de maille 2 mm
- ☐ Tamis pour tamisage humide de maille 250 μm
- ☐ Vaporisateur d'eau (préciser la marque dans le « matériel et méthode »)
- ☐ Pissette
- ☐ 2 Contenants en pyrex de taille plus grande que le diamètre et la hauteur du tamis de maille 250 μm
- ☐ Bain à ultrasons (si possible modèle FS140 à l'URSTM)
- ☐ Eau distillée ou désionisée
- ☐ Coupelles en plastique
- ☐ Contenant refermable en plastique (pouvant passer dans le bain à ultrason)
- ☐ Unité de filtration par succion
- ☐ Filtres 0.7 μm pour l'unité de filtration (GE Healthcare Life Sciences Whatman © Filter paper CAT No. 5201-240 24. cm).

- Méthode

NB : Si possible, préalablement humidifier le matériau à la teneur en eau massique moyenne in situ. Bien mélanger le matériau et le laisser reposer durant 24h pour que les pores les plus fins se remplissent également.

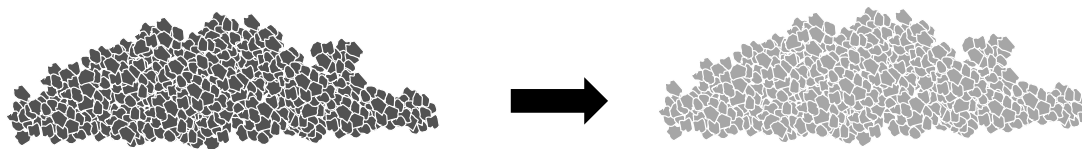
Ce protocole est adapté du chapitre 62 de l'ouvrage *Soil sampling and methods of analysis, second edition* (Carter & Gregorich, 2007).

1. Tamiser le matériau avec le tamis de maille 2 mm et placer la fraction < 2 mm à l'étuve pendant 48h

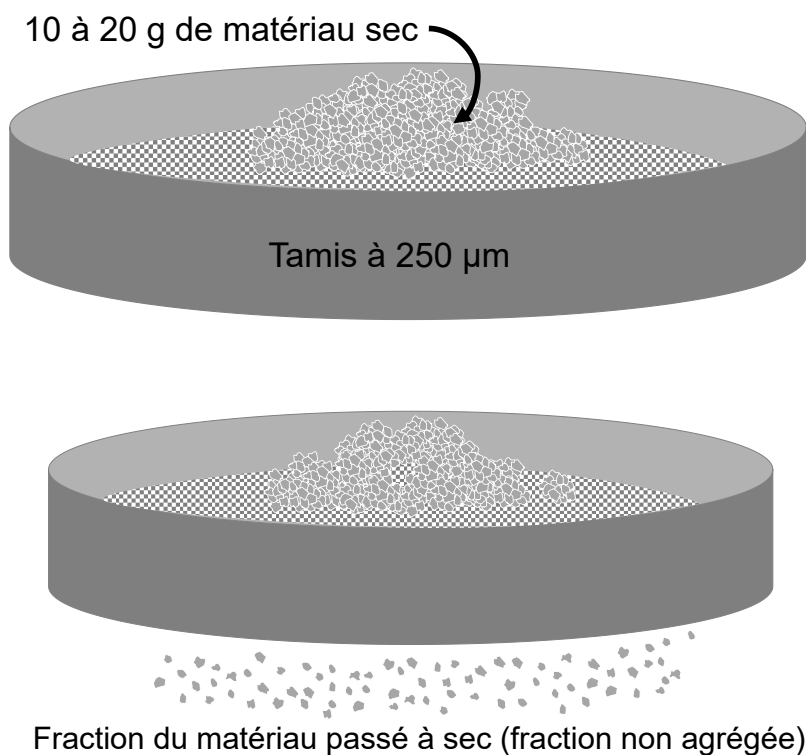


2. Peser un échantillon d'environ 10 à 20g de la fraction séchée à l'étuve

48 heures à l'étuve

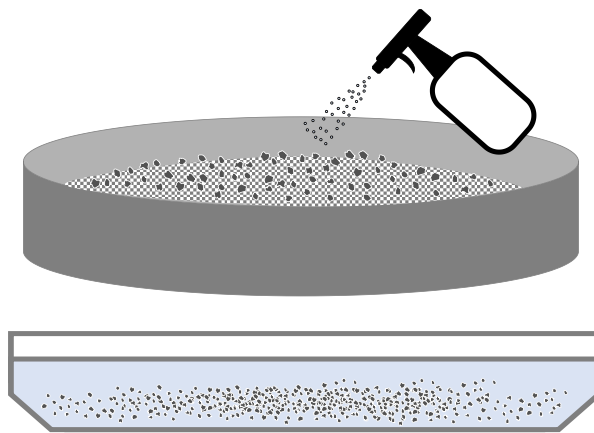


3. Déposer l'échantillon sur la maille du tamis et faire passer l'échantillon jusqu'à que plus rien ne passe.



4. Remplir le contenant en pyrex avec de l'eau distillée (ou désionisée). Le volume d'eau doit dépasser la hauteur de la maille du tamis, mais ne pas dépasser le bord supérieur du tamis.

5. Humidifier brièvement l'échantillon sur le tamis à plusieurs reprises grâce au vaporisateur (rempli d'eau distillée ou désionisée), en prenant soin de réaliser cette étape au-dessus du contenant rempli d'eau distillée. L'objectif est de lentement humidifier les agrégats pour créer des chemins préférentiels pour l'eau dans les agrégats et faciliter la désagrégation dans les étapes suivantes.



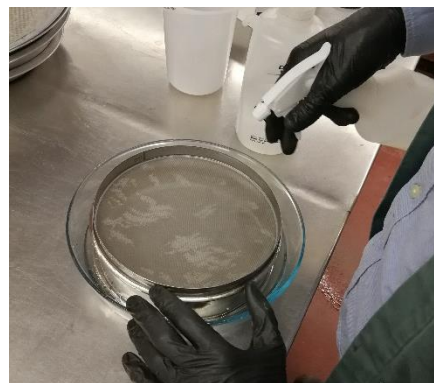
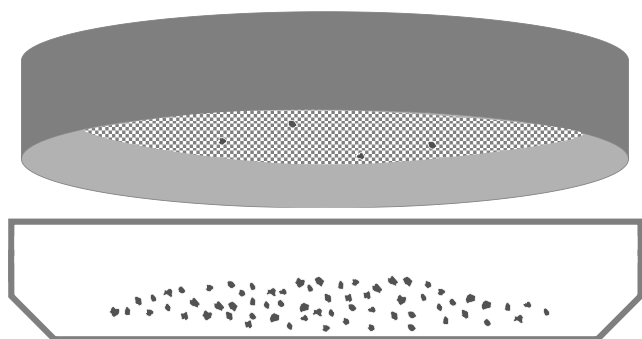
6. Abaisser le tamis dans le contenant rempli d'eau distillée, laisser tremper le contenu du tamis dans l'eau pendant 3 min.



7. Monter et abaisser le tamis 29 fois par minute durant 10 min dans le contenant rempli d'eau distillée, grâce à une application de métronome (Metronome Beats, Stonekick ©). Récupérer l'eau dans le contenant.



8. Sortir le tamis hors de l'eau et le placer en le retournant dans un autre contenant. Avec une pissette remplie d'eau distillé arroser le tamis pour faire tomber les agrégats qui n'ont pas passé les mailles du tamis lors de la précédente étape. Récupérer l'eau.



9. Placer le tamis dans un contenant de plastique rempli d'eau distillée puis placer le contenant dans le bain à ultrasons pendant 30 minutes⁵.



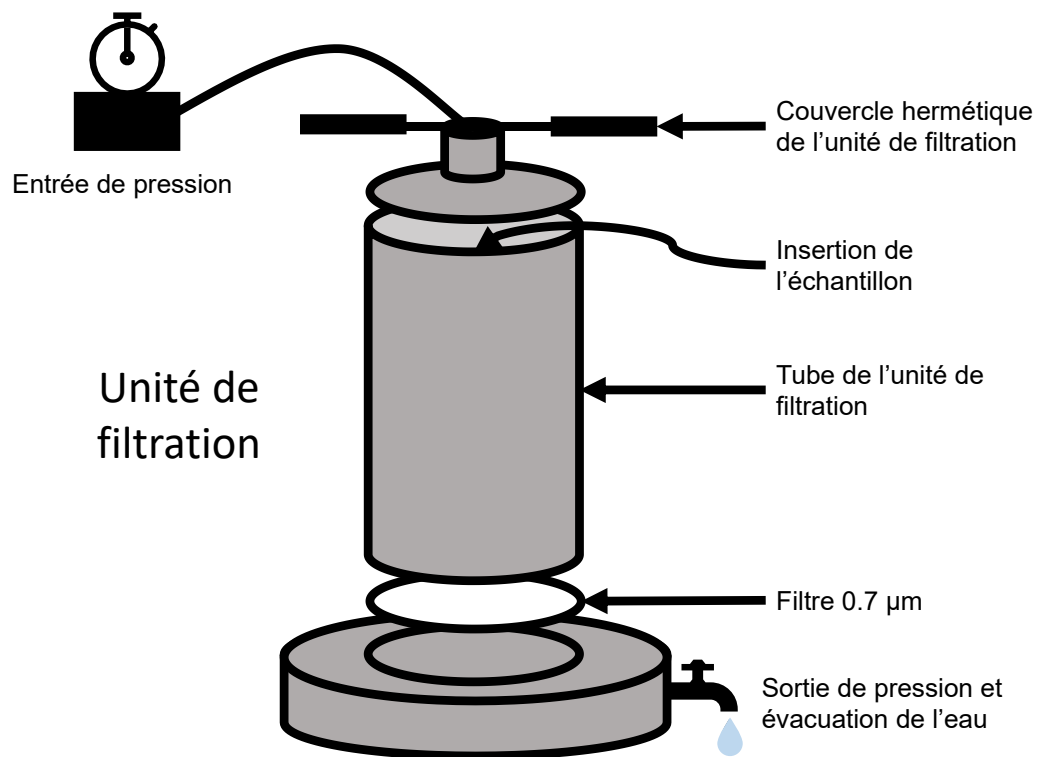
⁵Pour l'étape 9, le temps du bain à ultra-sons est de 30 min, mais ce temps peut être variable. Pour connaître le temps de sonication optimal :

Une énergie minimum de 20 J.cm⁻³ est nécessaire pour la destruction des agrégats dans un bain à ultrasons (Kaiser et al. 2014). Le calcul pour l'énergie se fait ainsi :

$$E = \frac{P \times t}{V}$$

Où P est la puissance en watts du bain à ultrasons (à l'URSTM, le modèle FS140 a une puissance de 185W), t est le temps de sonication en secondes et V est le volume du bain en cm³ (le modèle FS140 a une taille de réservoir maximale de 28182 cm³). En ne remplissant le bain que de moitié (assez pour immerger intégralement les échantillons) le volume est de 14091 cm³. En passant les échantillons une demi-heure dans le bain à ultrasons, on atteint l'énergie minimale pour briser les agrégats.

10. Récupérer l'eau de ce contenant et l'ajouter à l'eau récupérée à l'étape 8.
11. Placer l'eau du contenant de l'étape 7 dans l'unité de filtration avec un filtre 0.7 μm préalablement pesé (m_p).



12. Filtrer l'eau et placer le filtre de 0.7 μm placé sur une coupelle à l'étuve durant 12h.



13. Répéter les étapes 11 et 12 avec l'eau de l'étape 10.

14. Une fois le passage à l'étuve terminé peser les deux filtres, pour obtenir la masse des filtres « souillés » (m_p).

15. Soustraire la masse du filtre à la masse du filtre « souillé ». $m = m_p - m_s$

16. Le pourcentage de stabilité des agrégats humides (PWAS) est obtenu ainsi :

$$PWAS = \frac{100 \times m_1}{m_1 + m_2}$$

Où m_1 est la masse nette des agrégats instables (correspondant à la solution de l'étape 7, filtrée et séchée) et m_2 est la masse nette des agrégats stables (correspondant à la solution de l'étape 10, filtrée et séchée)

ANNEXE D ANALYSE DE L'AGRÉGATION DES SUBSTRATS

MINÉRAUX DES CHAPITRES 3 ET 5

Les résultats suivants sont obtenus à partir du protocole développé dans l'Annexe B du document, sur les matériaux du dispositif A. Un échantillon par cellule du dispositif a été prélevé pour obtenir ces résultats.

Des modèles linéaires ont été exécutés, en tenant compte de l'effet bloc pour tester les hypothèses nulles suivantes :

- Au moins un des 4 groupes de la variable « traitements » (Sand, WR, RCW/WR, RCW/Sand) est significativement différent des autres groupes, concernant la variable PWAS (= pourcentage de matériau passant à 250 μm après tamisage humide sur masse totale après tamisage sec (masse du tamisage humide passante + non passante)),
- Au moins un des 4 groupes de la variable « traitements » est significativement différent des autres groupes, concernant la variable PNA (= pourcentage de matériau non agrégé sur la masse d'échantillon totale),
- Au moins un des 4 groupes de la variable « traitements » est significativement différent des autres groupes, concernant la variable PNASP (= pourcentage de matériau non agrégé sur la masse passante à 250 μm (masse totale sèche passante après tamisage humide + tamisage sec)).

La distribution des résidus des modèles ne suivait pas une loi de Gauss, l'ANOVA n'est donc pas l'analyse retenue, mais une analyse de déviance sur des modèles linéaires généralisés incluant l'effet bloc et suivant une loi de Gamma a été réalisée (modèle approprié pour les valeurs dispersées entre 0 et 1, comme dans le cas des ratios).

Les résultats présentaient 2 groupes différents significativement concernant les variables PNA et PNASP : les traitements avec sable étant significativement plus élevés que les traitements avec stériles pour ces deux variables. Aucune différence significative n'a été trouvée concernant la variable PWAS.

Cependant, il semble qu'il y avait également une différence entre les groupes avec BRF et sans BRF au sein des groupes des types de substrats minéraux (sable et stériles). Deux autres variables

qualitatives (facteurs) : « type de substrat » et « présence/absence de couche de BRF » ont donc été créées. L'interaction entre ces deux facteurs a donc été testée de la même manière que l'analyse précédente (analyse de déviance sur modèles linéaires généralisés avec inclusion de l'effet bloc) et le résultat indiquait la présence d'une interaction entre les facteurs.

Par la suite trois sous jeux de données ont été créés :

- Présence/absence de couche de BRF, uniquement avec le stériles (= pour voir l'effet de l'apport de BRF sur l'agrégation du stériles),
- Présence/absence de couche de BRF, uniquement avec le sable (= pour voir l'effet de l'apport de BRF sur l'agrégation du sable),
- Type de substrat minéral, sans couche de BRF (= pour voir l'effet du type de substrat minéral sur l'agrégation).

Les résultats des mêmes analyses que menées précédemment ont donné les résultats suivants :

- PNA et PNASP : le sable s'agrège significativement moins que le stériles (ce qui correspond aux résultats précédents),
- PNA et PNASP : l'apport d'une couche de BRF a augmenté significativement l'agrégation sur les roches stériles,
- PNA et PNASP : l'apport d'une couche de BRF n'a pas significativement augmenté l'agrégation sur le sable.

Les résultats s'expliquent par le fait que le facteur prépondérant dans l'agrégation est en premier lieu la distribution granulométrique du substrat minéral, puis l'apport de matière organique (et sa décomposition).

Si on met cela en perspective avec les résultats de l'analyse granulométrique que nous avons fait au début, le sable contient moins de particules fines que le stériles et permet donc moins l'agrégation. En revanche, avec une certaine portion de fraction fine, l'apport de matière organique augmente l'agrégation.

Les deux graphiques suivants illustrent le phénomène décrit.

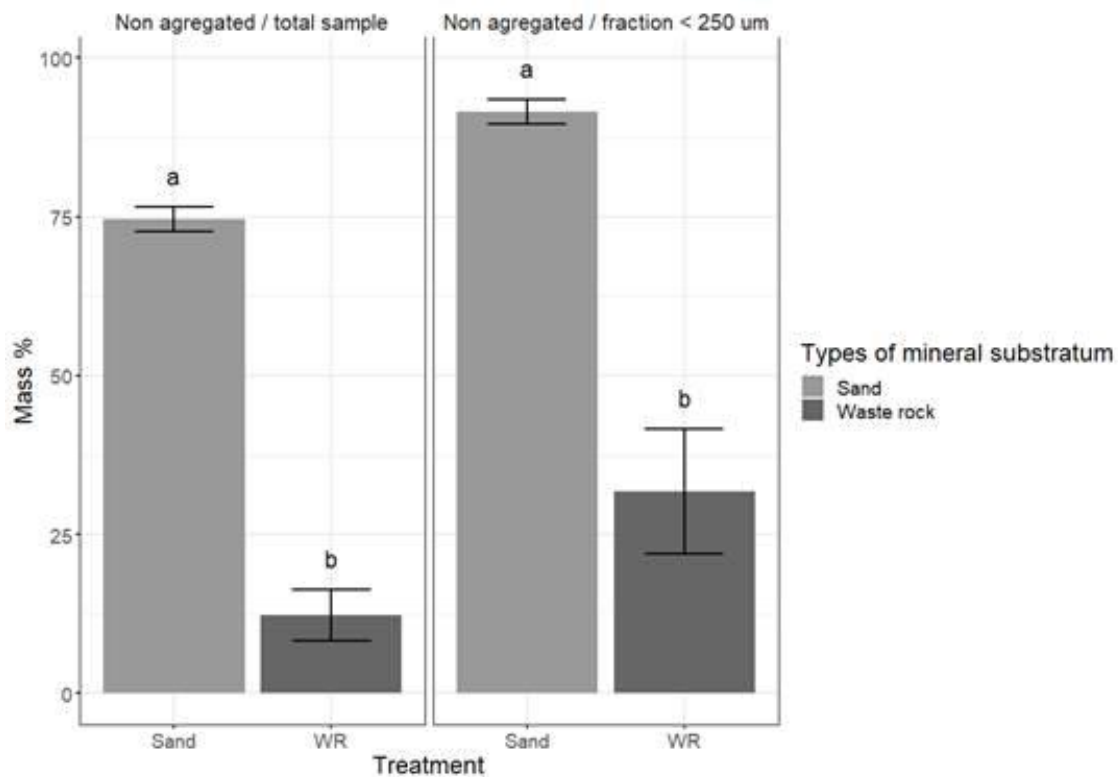


Figure D.1 Analyse comparative de l'agrégation des deux substrats minéraux, montrant la proportion de la masse de matériau non agrégé sur la masse totale de l'échantillon à gauche et sur la masse totale de la fraction < 250 μm à droite. En gris clair est représenté le sable et en gris foncé sont représentés les roches stériles

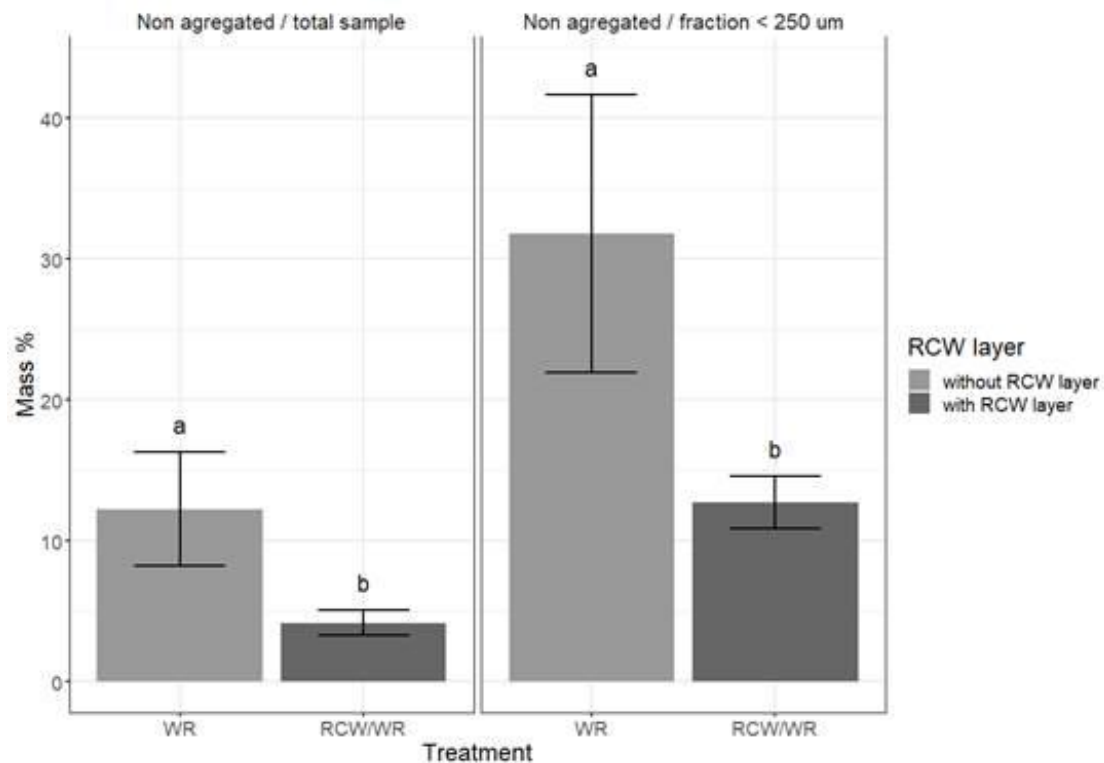


Figure D.2 Analyse comparative de l'agrégation des roches stériles avec et sans paillis de BRF, montrant la proportion de la masse de matériau non agrégé sur la masse totale de l'échantillon à gauche et sur la masse totale de la fraction < 250 µm à droite. En gris clair sont représentés les roches stériles seules et en gris foncé sont représentés les roches stériles avec un paillis de BRF. Seul le matériel minéral a été analysé, le paillis de BRF a été retiré lors de la collecte de l'échantillon sur le terrain.

ANNEXE E STRATÉGIE DE RECHERCHE ET MÉTHODOLOGIE POUR L'ANALYSE BIBLIOMÉTRIQUE

La recherche documentaire a été effectuée à l'aide du moteur de recherche scientifique Scopus. La chaîne de caractères suivante a été utilisée pour la requête de recherche:

```
(TITLE-ABS-KEY("veget*" OR "afforest*" OR
"reforest*" OR "reveget*")
AND TITLE-ABS-KEY("mine" OR "mining" OR "mine site*"
OR "mining site*" OR "waste rocks" OR "tailings")
AND TITLE-ABS-KEY("amendment" OR "mulch" OR "soil
treatment" OR "substrate improvement" OR "topsoil"))
AND NOT TITLE-ABS-KEY("data min*")
```

Cette requête a pour objectif de récupérer toutes les contributions scientifiques ayant un lien avec la végétation, l'afforestation, la reforestation sur les sites miniers, notamment ceux qui ont subi des traitements de sol, des améliorations de substrat ou l'ajout de terre végétale.

Cette base de données ainsi obtenue comprenait 1321 contributions scientifiques.

L'analyse des données a été effectuée en utilisant R avec les packages *tidyverse*, *readxl*, *tidytext*, *janitor*, *tidyr*, *widyr*, *igraph* et *ggraph*. Les articles récupérés ont été analysés pour en extraire les thèmes récurrents dans les résumés.

Tout d'abord, l'ensemble de données a été nettoyé et préparé pour l'analyse. Les types de documents ont été filtrés pour ne conserver que les articles. Les résumés ont été transformés en minuscules, les chiffres ont été supprimés, et les mots ont été extraits à partir du texte du résumé. De plus, les mots vides (« stop words ») ont été supprimés de l'analyse.

Des filtres ont été appliqués sur cette nouvelle base de données pour ne sélectionner que les articles comprenant les mots suivants dans les résumés :

```
vegetation ; plant ; plants ; tree ; trees ; forest ;  
forests  
  
tailings ; waste rocks ; waste rock ; ground ;  
substrate ; substratum ; substrates
```

Ensuite, les mots les plus fréquemment utilisés ont été visualisés sous forme de graphiques. Ces graphiques représentent les mots comme des nœuds, et les liens entre les nœuds représentent le nombre d'occurrences des paires de mots dans le même résumé. Les liens ont été pondérés en fonction du nombre d'occurrences des paires de mots. Pour montrer les thématiques principales et les sujets les plus étudiés dans la littérature, les mots qui étaient présents dans la requête de recherche ont été retirés, en filtrant au préalable les résumés contenant bien ces mots afin de s'assurer que les contributions scientifiques portaient bien sur ces sujets de recherche.

ANNEXE F MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE DU CHAPITRE 3

Table F.1 Age and size at which different species of North American forest trees are mature for seed production.

Taxonomic group	Scientific name	Seed tree age (years)	Mature seed tree age (years)	Minimum size of seed tree	Average mature tree size (m)	Average DBH at maturity (cm)	Page <i>Silvics of North America</i>
Conifers	<i>Abies balsamea</i>	15	20 to 30	2	12 to 18	30 to 46	30 and following (vol. 1)
	<i>Pinus banksiana</i>	4	8 +	1,4	5,5 to 10	15 +	559 and following (vol. 1)
	<i>Thuja occidentalis</i>	30	75 (best production)	10	12 to 15	30 to 60	1193 and following (vol. 1)
	<i>Picea glauca</i>	10 to 15	30 +	-	14 to 30	beyond 10 cm (highly variable)	402 and following (vol. 1)
	<i>Picea mariana</i>	from 10	30 +	-	12 to 20 (in good conditions), 8 to 12 (in bad conditions)	23 (in good conditions), 13 (in bad conditions)	448 and following (vol. 1)
Hardwood	<i>Acer nigrum</i>	from 6	10 +	4,9	14 to 23	20	145 and following (vol. 2)
	<i>Acer pensylvanicum</i>	from 4	15	1	5 to 15	-	154 and following (vol. 2)
	<i>Acer rubrum</i>	-	70 to 80	5	18 to 27	30 to 76	167 and following (vol. 2)
	<i>Acer saccharinum</i>	5	11 +	3,8	20 to 37	91 to 122	183 and following (vol. 2)
	<i>Acer saccharum</i>	22	40 to 60 (low production), 70 to 100 (high production)	-	20 to 37	20 to 36 (low production), 76 to 91 (high production) (record to 209)	198 and following (vol. 2)
	<i>Acer spp.</i>	4 to 22	10 +	1 +	5 +	20 +	111 - 202 (vol. 2)
	<i>Betula alleghaniensis</i>	16	40 to 70 (optimal age)	6,7 to 7,6	15 +	20 +	293 and following (vol. 2)
	<i>Betula papyrifera</i>	15	40 to 70 (optimal age)	-	21	20 + (30)	344 and following (vol. 2)
	<i>Betula spp.</i>	15 to 16	40 to 70 (optimal age)	7	15 - 21 +	20 +	293 - 350
	<i>Populus balsamifera</i>	8 to 10	-	-	-	-	1024 and following (vol. 2)
	<i>Populus tremuloides</i>	10 to 20	50 to 70 (optimal age)	-	20 to 25	18 to 30	1088 and following (vol. 2)
	<i>Populus spp.</i>	8	-	15	20 +	18 +	1024 - 1135 (vol. 2)
	<i>Salix spp.</i>	10	25 to 75	9,8	15 +	14	1479 and following (vol. 2)

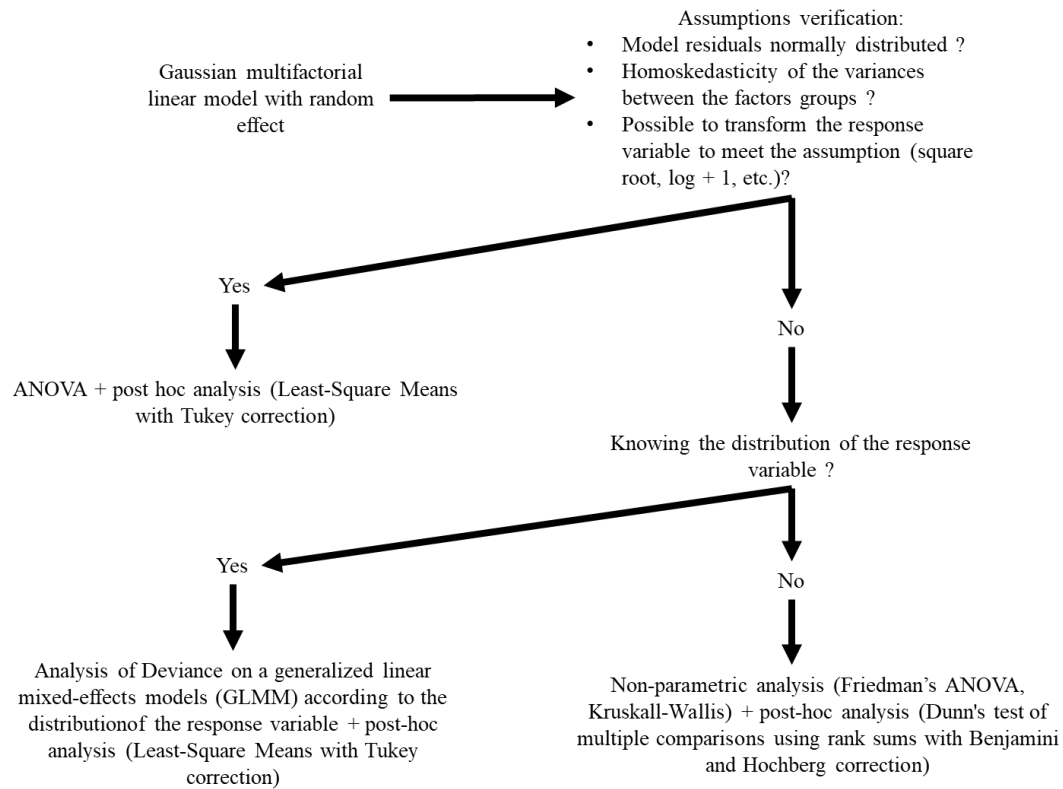


Figure F.1 Decision chart for the choice of statistical tests performed when comparing the effect of treatments on response variables

ANNEXE G MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE DU CHAPITRE 4

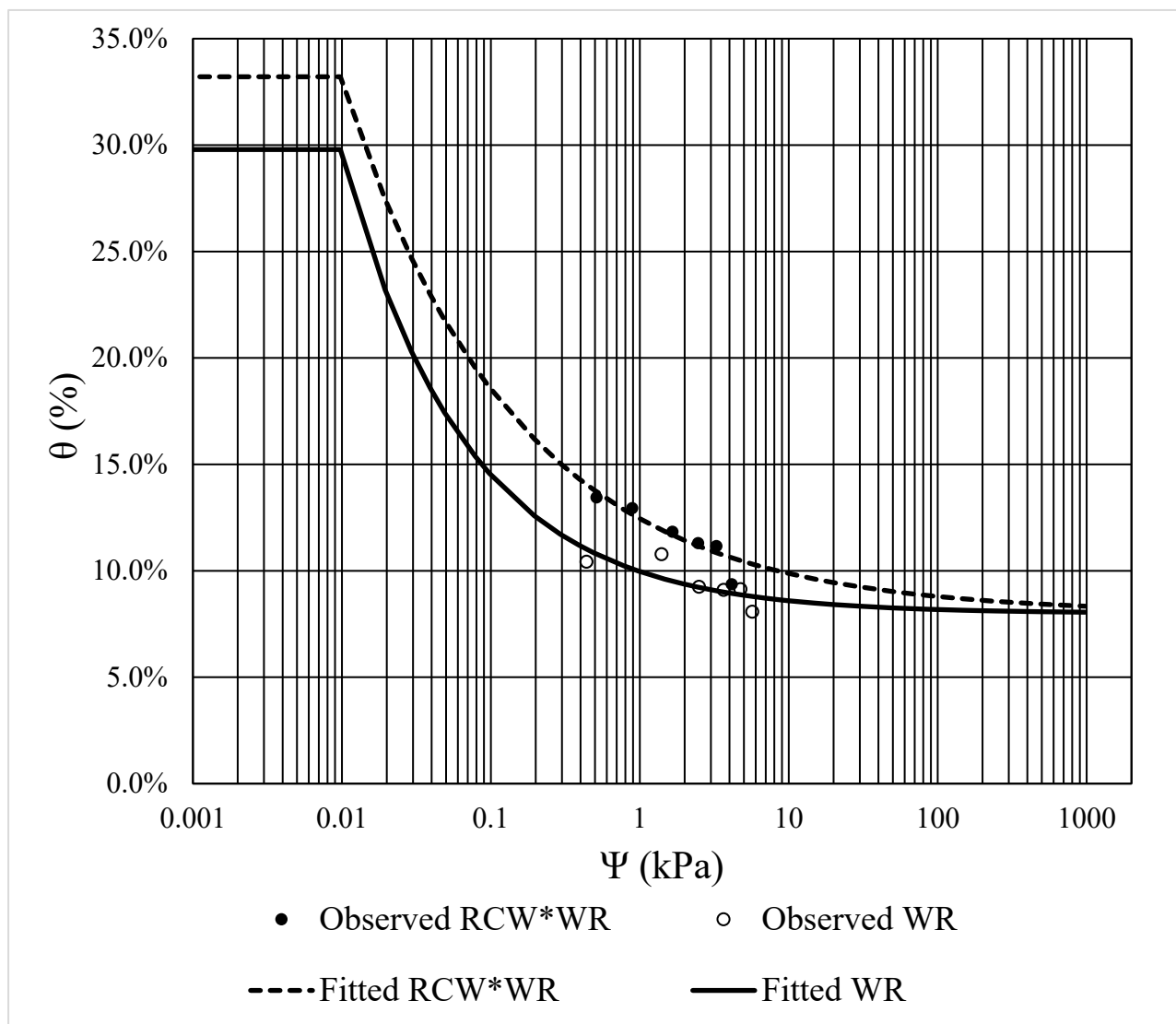


Figure G.1 Water retention curves for the mineral substrate (WR alone and RCWxWR), fitted to the observed values using the Brooks-Corey equation and the method of least squares.

Table G.1 Non-exhaustive literature review of arsenic concentrations in soils and conifer stems, needles and roots tissues.

Studied compartment	Species	Concentration (ppm)	Substratum	Publication
Needles	<i>Pinus sylvestris</i>	7.634	Pyrrite mine deposit	J. Wang et al. 2023
Needles	<i>Picea abies</i>	1.5	Mining sites in the balkans	Popovic et al. 2022
Needles	<i>Pinus nigra</i>	0.2	Forest luvisol Croatia	Juranovic et al. 2018
Needles	<i>Pinus sylvestris</i>	0.1	Forest luvisol Croatia	Juranovic et al. 2018
Needles	<i>Pinus densiflora</i>	2.125	Heavily contaminated tailings from an abandoned Pb-Zn mine site (Korea)	Shin et al. 2019
Needles	<i>Pinus densiflora</i>	4.975	Soil from the site of the former processing plant (Korea)	Shin et al. 2019
Needles	<i>Pinus densiflora</i>	0	Adjacent forest (Korea)	Shin et al. 2019
Needles	<i>Pinus banksiana</i>	17.4 (9.21)	RCW/Waste rocks	Taurines et al.
Needles	<i>Pinus banksiana</i>	14.4 (5.61)	RCWxWaste rocks	Taurines et al.
Needles	<i>Pinus banksiana</i>	3.73 (1.02)	Topsoil	Taurines et al.
Needles	<i>Pinus banksiana</i>	15.2 (3.2)	Waste rocks	Taurines et al.
Shoots	<i>Dead Pinus sylvestris</i>	11.3	Uranium mine concentrator tailings	Sheppard et al. 1985
Shoots	<i>Alive Pinus sylvestris</i>	13.5	Uranium mine concentrator tailings	Sheppard et al. 1985
Shoots	<i>Dead Pinus sylvestris</i>	13.1	Experimentally contaminated soil	Sheppard et al. 1985
Shoots	<i>Alive Pinus sylvestris</i>	5.4	Experimentally contaminated soil	Sheppard et al. 1985
Shoots	<i>Pinus massoniana</i>	39.73	Acid-generating tailings from a mine in China	Yu et al. 2020
Roots	<i>Alive Pinus sylvestris</i>	143.7	Uranium mine tailings	Sheppard et al. 1985
Roots	<i>Alive Pinus sylvestris</i>	26.5	Experimentally contaminated soil	Sheppard et al. 1985
Roots	<i>Pinus massoniana</i>	19.73	Acid-generating tailings from a mine in China	Yu et al. 2020
15 cm depth soil	-	14010	Heavily contaminated tailings from an abandoned Pb-Zn mine site (Korea)	Shin et al. 2019
15 cm depth soil	-	24530	Soil from the site of the former processing plant (Korea)	Shin et al. 2019

Table G.1 Non-exhaustive literature review of arsenic concentrations in soils and conifer stems, needles and roots tissues. (suite)

Studied compartment	Species	Concentration (ppm)	Substratum	Publication
15 cm depth soil	-	50	Adjacent forest (Korea)	Shin et al. 2019
Soil	-	3129	Pyrrite mine deposit	J. Wang et al. 2022
Soil	-	500	Uranium mine concentrator tailings	Sheppard et al. 1985
Soil	-	200	Experimentally contaminated soil	Sheppard et al. 1985
Soil	-	306 (101)	RCW/Waste rocks	Taurines et al.
Soil	-	196 (11.7)	RCWxWaste rocks	Taurines et al.
Soil	-	138 (33.9)	Topsoil	Taurines et al.
Soil	-	296 (58.4)	Waste rocks	Taurines et al.
Tailings (bulk soil)	-	370	Acid-generating tailings from a mine in China	Yu et al. 2020

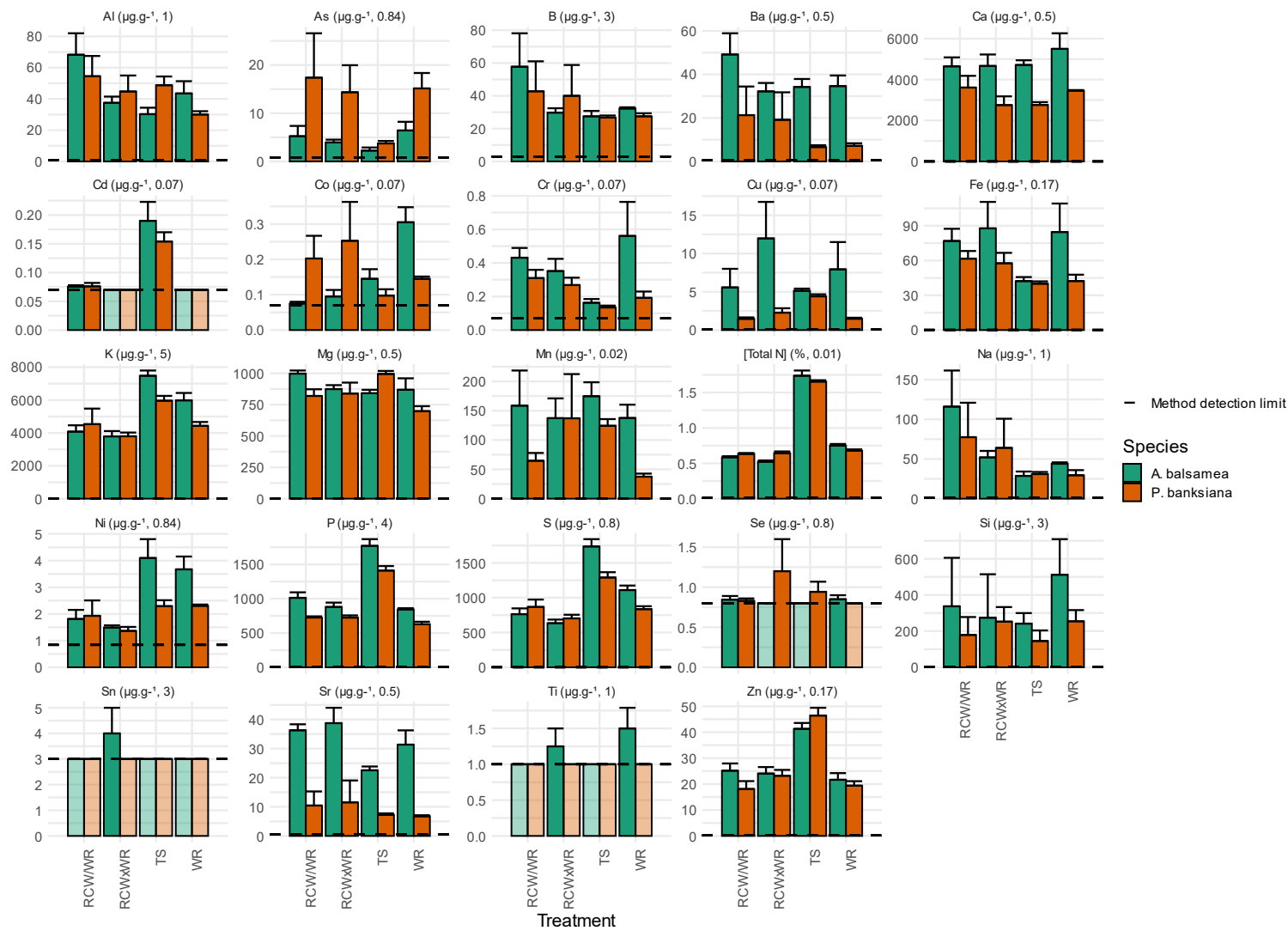


Figure G.2 Element concentration in the needles of the two species studied

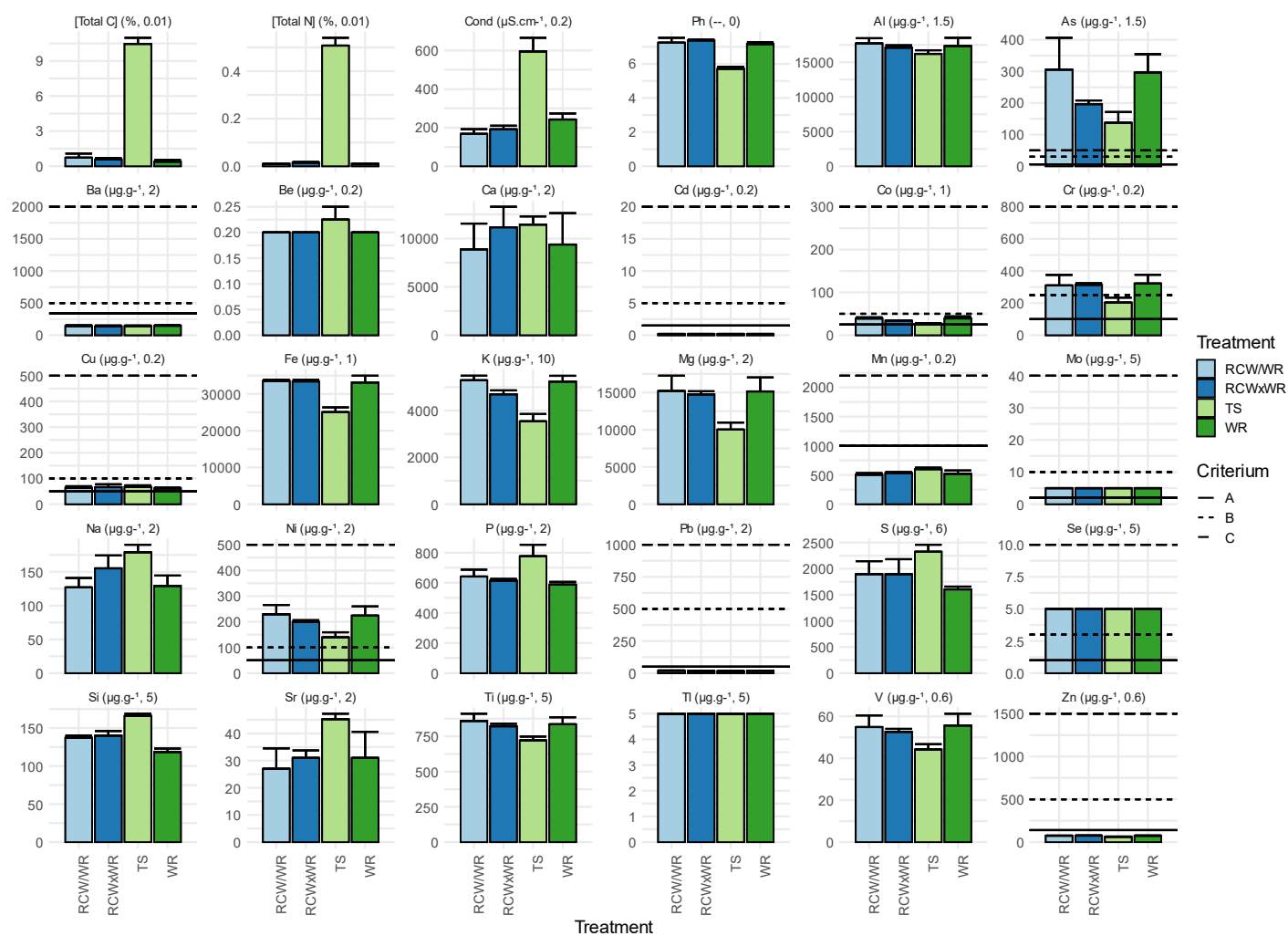


Figure G.3 Element concentration in substrates. The different types of line are the criteria of provincial soil regulations.

Table G.2 Average concentration (and standard error between brackets) of elements in substrates.

Element	RCW/WR	RCWxWR	TS	WR	Provincial regulatory content criteria		
					A	B	C
Aluminium (ug/g, MDL: 1.5)	17500 (567.2)	17100 (329.1)	16200 (521.2)	17325 (1191.2)	-	-	-
Arsenic (ug/g, MDL: 1.5)	309.8 (71.4)	196.5 (11.7)	137.6 (33.9)	296.2 (58.4)	6	30	50
Barium (ug/g, MDL: 2)	141 (8.5)	136.8 (13.7)	142.2 (8.2)	147.2 (9)	340	500	2000
Beryllium (ug/g, MDL: 0.2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	-	-
Cadmium (ug/g, MDL: 0.2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.5	5	20
Calcium (ug/g, MDL: 2)	8110 (2037.4)	11165 (2119.7)	11440 (848.5)	9380 (3246)	-	-	-
Carbon (% , MDL: 0.01)	0.6 (0.3)	0.6 (0.1)	10.5 (0.5)	0.4 (0.2)	-	-	-
Chromium (ug/g, MDL: 0.2)	297 (48.2)	313.8 (9.8)	203 (31.2)	321.8 (54.7)	100	250	800
Cobalt (ug/g, MDL: 1)	37.5 (2.4)	33.8 (0.8)	26.2 (2)	39.2 (4.6)	25	50	300
Conductivity (uS/cm, MDL: 0.2)	172 (17.9)	191.1 (18.8)	595 (70.9)	242.2 (31.3)	-	-	-
Copper (ug/g, MDL: 0.2)	61.1 (5.1)	66.5 (10.9)	67.2 (6.2)	61.4 (3)	50	100	500
Iron (ug/g, MDL: 1)	33425 (249.6)	33425 (409)	25050 (1299)	33125 (1840)	-	-	-
Lead (ug/g, MDL: 2)	18 (1.8)	17.2 (0.9)	15.2 (0.8)	18.8 (0.9)	50	500	1000
Magnesium (ug/g, MDL: 2)	14700 (1536.8)	14750 (417.3)	10025 (943.4)	15150 (1875.5)	-	-	-
Manganese (ug/g, MDL: 0.2)	504.8 (19.2)	534.2 (15.6)	600.5 (24.4)	519 (57.6)	1000	1000	2200
Molybdenum (ug/g, MDL: 5)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2	10	40

Table G.2 Average concentration (and standard error between brackets) of elements in substrates. (suite)

Element	RCW/WR	RCWxWR	TS	WR	Provincial regulatory content criteria		
					A	B	C
Nickel (ug/g, MDL: 2)	216.5 (28.7)	199.2 (6.8)	139.2 (19.9)	224 (35.8)	50	100	500
Nitrogen (% , MDL: 0.01)	N.D.	N.D.	0.5 (0)	N.D.	-	-	-
Phosphorus (ug/g, MDL: 2)	636.2 (32.6)	614.2 (11.1)	776 (76.7)	588 (17.8)	-	-	-
Potassium (ug/g, MDL: 10)	5152.5 (197)	4697.5 (163.6)	3540 (311.3)	5240 (245.4)	-	-	-
Selenium (ug/g, MDL: 5)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1	3	10
Silicon (ug/g, MDL: 5)	128.5 (9.1)	140 (6.1)	166 (2.9)	118.5 (4.5)	-	-	-
Sodium (ug/g, MDL: 2)	128.5 (9.9)	155.2 (19)	179 (11.2)	129.2 (15.2)	-	-	-
Strontium (ug/g, MDL: 2)	25 (5.7)	31 (2.7)	45.2 (2)	31 (9.6)	-	-	-
Sulfur (ug/g, MDL: 6)	1792.5 (204.1)	1895 (287.2)	2325 (134.8)	1605 (52.7)	-	-	-
Thallium (ug/g, MDL: 5)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	-	-
Titane (ug/g, MDL: 5)	844.2 (39.1)	821 (17.4)	720.8 (27.2)	835.2 (49.6)	-	-	-
Vanadium (ug/g, MDL: 0.6)	54.2 (4)	52.6 (1.4)	44.2 (2.5)	55.6 (5.6)	-	-	-
Zinc (ug/g, MDL: 0.6)	75.2 (0.6)	75.8 (2.1)	62 (3.3)	74.2 (3.3)	140	500	1500
pH (--, MDL: 0)	7.3 (0.2)	7.4 (0)	5.7 (0.1)	7.2 (0.1)	-	-	-

Table G.3 Average element concentration and standard error between brackets in conifer needles.

Species	Element	RCW/WR	RCW _x WR	TS	WR
<i>A. balsamea</i>	Aluminium (ug/g, MDL: 1)	68.2 (13.7)	37.5 (4)	30.2 (4.1)	43.5 (7.8)
<i>A. balsamea</i>	Antimony (ug/g, MDL: 3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>A. balsamea</i>	Arsenic (ug/g, MDL: 0.84)	5.2 (2.1)	3.9 (0.6)	2.3 (0.6)	6.4 (1.8)
<i>A. balsamea</i>	Barium (ug/g, MDL: 0.5)	49.1 (9.7)	32.2 (3.9)	34.2 (3.7)	34.6 (4.9)
<i>A. balsamea</i>	Beryllium (ug/g, MDL: 0.05)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>A. balsamea</i>	Boron (ug/g, MDL: 3)	57.8 (20.4)	29.8 (2.7)	27.5 (3.3)	32.2 (0.8)
<i>A. balsamea</i>	Cadmium (ug/g, MDL: 0.07)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.2 (0)	0.1 (0)
<i>A. balsamea</i>	Calcium (ug/g, MDL: 0.5)	4645 (438.8)	4665 (559.8)	4712.5 (228.6)	5500 (760.9)
<i>A. balsamea</i>	Chromium (ug/g, MDL: 0.07)	0.4 (0.1)	0.4 (0.1)	0.2 (0)	0.6 (0.2)
<i>A. balsamea</i>	Cobalt (ug/g, MDL: 0.07)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.3 (0)
<i>A. balsamea</i>	Copper (ug/g, MDL: 0.07)	5.6 (2.4)	12 (4.8)	5.1 (0.3)	7.9 (3.6)
<i>A. balsamea</i>	Iron (ug/g, MDL: 0.17)	76.8 (10.5)	87.7 (22.8)	42.2 (3.5)	84.6 (24.6)
<i>A. balsamea</i>	Magnesium (ug/g, MDL: 0.5)	997.5 (24.8)	874.2 (31.5)	841.2 (27.3)	868.8 (91.5)
<i>A. balsamea</i>	Manganese (ug/g, MDL: 0.02)	158.6 (59.9)	137.3 (33.7)	174.7 (23.8)	137.6 (22.7)
<i>A. balsamea</i>	Nickel (ug/g, MDL: 0.84)	1.8 (0.3)	1.5 (0.1)	4.1 (0.7)	3.7 (0.5)
<i>A. balsamea</i>	Nitrogen (% , MDL: 0.01)	0.6 (0)	0.5 (0)	1.7 (0.1)	0.8 (0)
<i>A. balsamea</i>	Phosphorus (ug/g, MDL: 4)	1012.8 (80.5)	879.8 (63.4)	1770 (98.1)	843.8 (17.5)
<i>A. balsamea</i>	Potassium (ug/g, MDL: 5)	4080 (384.6)	3790 (324)	7477.5 (320)	5982.5 (450)
<i>A. balsamea</i>	Selenium (ug/g, MDL: 0.8)	N.D.	N.D.	N.D.	0.9 (0)
<i>A. balsamea</i>	Silicon (ug/g, MDL: 3)	337.5 (268.2)	274.5 (240.2)	241.8 (58.1)	512 (197)
<i>A. balsamea</i>	Sodium (ug/g, MDL: 1)	116 (45.5)	52 (8.2)	28.8 (5.5)	44 (1.8)
<i>A. balsamea</i>	Strontium (ug/g, MDL: 0.5)	36.3 (2.1)	38.8 (5.3)	22.6 (1.3)	31.4 (4.9)
<i>A. balsamea</i>	Sulfur (ug/g, MDL: 0.8)	763.4 (82.9)	633.7 (52)	1735.9 (105.1)	1109.5 (64.8)

Table G.3 Average element concentration and standard error between brackets in conifer needles. (suite)

Species	Element	RCW/WR	RCW _x WR	TS	WR
<i>A. balsamea</i>	Thallium (ug/g, MDL: 1)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>A. balsamea</i>	Tin (ug/g, MDL: 3)	N.D.	4 (1)	N.D.	N.D.
<i>A. balsamea</i>	Titanium (ug/g, MDL: 1)	N.D.	1.2 (0.2)	N.D.	1.5 (0.3)
<i>A. balsamea</i>	Vanadium (ug/g, MDL: 3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>A. balsamea</i>	Zinc (ug/g, MDL: 0.17)	25.1 (2.8)	24 (2.5)	41.3 (2.3)	21.7 (2.6)
<i>P. banksiana</i>	Aluminium (ug/g, MDL: 1)	54.5 (13)	44.8 (10.2)	48.8 (5.6)	30 (2.1)
<i>P. banksiana</i>	Antimony (ug/g, MDL: 3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. banksiana</i>	Arsenic (ug/g, MDL: 0.84)	17.4 (9.2)	14.4 (5.6)	3.7 (0.5)	15.1 (3.2)
<i>P. banksiana</i>	Barium (ug/g, MDL: 0.5)	21.3 (13.2)	19.1 (12.6)	6.6 (0.8)	7.2 (1.2)
<i>P. banksiana</i>	Beryllium (ug/g, MDL: 0.05)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. banksiana</i>	Boron (ug/g, MDL: 3)	42.8 (18.3)	40 (18.8)	26.8 (1.2)	27.5 (1.8)
<i>P. banksiana</i>	Cadmium (ug/g, MDL: 0.07)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.2 (0)	0.1 (0)
<i>P. banksiana</i>	Calcium (ug/g, MDL: 0.5)	3610 (571.5)	2752.5 (426.1)	2760 (135.9)	3455 (30.7)
<i>P. banksiana</i>	Chromium (ug/g, MDL: 0.07)	0.3 (0)	0.3 (0)	0.1 (0)	0.2 (0)
<i>P. banksiana</i>	Cobalt (ug/g, MDL: 0.07)	0.2 (0.1)	0.3 (0.1)	0.1 (0)	0.1 (0)
<i>P. banksiana</i>	Copper (ug/g, MDL: 0.07)	1.5 (0.2)	2.3 (0.6)	4.4 (0.3)	1.5 (0.1)
<i>P. banksiana</i>	Iron (ug/g, MDL: 0.17)	61.6 (6.6)	57.6 (9)	40 (2)	42.2 (5.5)
<i>P. banksiana</i>	Magnesium (ug/g, MDL: 0.5)	819.5 (53.3)	838.8 (87.1)	994.8 (24)	698.2 (39.6)
<i>P. banksiana</i>	Manganese (ug/g, MDL: 0.02)	64.7 (13.3)	137.1 (75.3)	124.3 (11.4)	37.5 (5.2)
<i>P. banksiana</i>	Nickel (ug/g, MDL: 0.84)	1.9 (0.6)	1.4 (0.1)	2.3 (0.2)	2.3 (0)
<i>P. banksiana</i>	Nitrogen (% , MDL: 0.01)	0.6 (0)	0.6 (0)	1.7 (0)	0.7 (0)
<i>P. banksiana</i>	Phosphorus (ug/g, MDL: 4)	725.5 (16.9)	724.8 (32.3)	1410 (66.1)	627.2 (37)
<i>P. banksiana</i>	Potassium (ug/g, MDL: 5)	4535 (946)	3797.5 (226.3)	5960 (294.9)	4432.5 (234.6)
<i>P. banksiana</i>	Selenium (ug/g, MDL: 0.8)	N.D.	1.2 (0.4)	0.9 (0.1)	N.D.

Table G.3 Average element concentration and standard error between brackets in conifer needles. (suite)

Species	Element	RCW/WR	RCW _x WR	TS	WR
<i>P. banksiana</i>	Silicon (ug/g, MDL: 3)	179 (99.1)	252.8 (80.5)	145.5 (58.5)	254.5 (62)
<i>P. banksiana</i>	Sodium (ug/g, MDL: 1)	77.5 (43.4)	64 (36.7)	31 (2.6)	29.5 (6.5)
<i>P. banksiana</i>	Strontium (ug/g, MDL: 0.5)	10.4 (4.8)	11.5 (7.5)	7.2 (0.5)	6.8 (0.4)
<i>P. banksiana</i>	Sulfur (ug/g, MDL: 0.8)	867.2 (105.8)	703.1 (52.1)	1289.7 (76.4)	835.1 (42.5)
<i>P. banksiana</i>	Thallium (ug/g, MDL: 1)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. banksiana</i>	Tin (ug/g, MDL: 3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. banksiana</i>	Titanium (ug/g, MDL: 1)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. banksiana</i>	Vanadium (ug/g, MDL: 3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. banksiana</i>	Zinc (ug/g, MDL: 0.17)	18.1 (3)	23.2 (2.3)	46.4 (3)	19.4 (1.7)

Table G.4 Results of statistical analyses and comparison tests on chemical concentrations in conifer needles.

Chemical	MDL	Unit	Variable	Species	WR	RCW/WR	RCWxWR	TS	DF	Stat	P-value	Test	Shapiro test	Levene test
Aluminium	1	ug/g	Al	<i>A. balsamea</i>	43.5 (7.84)	68.25 (13.74)	37.5 (3.97)	30.25 (4.11)	4	71.48	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Arsenic	0,84	ug/g	As	<i>A. balsamea</i>	6.43 (1.79)	5.24 (2.13)	3.94 (0.58)	2.25 (0.64)	4	72.36	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Boron	3	ug/g	B	<i>A. balsamea</i>	32.25 (0.75)	57.75 (20.38)	29.75 (2.69)	27.5 (3.3)	4	72.37	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Barium	0,5	ug/g	Ba	<i>A. balsamea</i>	34.62 (4.88)	49.15 (9.75)	32.2 (3.86)	34.23 (3.67)	4	72.36	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Calcium	0,5	ug/g	Ca	<i>A. balsamea</i>	5500 (760.9)	4645 (438.81)	4665 (559.77)	4712.5 (228.63)	3	0.78	0.54 -	ANOVA	0.16	0.74
Cadmium	0,07	ug/g	Cd	<i>A. balsamea</i>	0.07 (0)	0.08 (0)	0.07 (0)	0.19 (0.03)	4	72.47	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Cobalt	0,07	ug/g	Co	<i>A. balsamea</i>	0.3 (0.04)	0.08 (0)	0.1 (0.02)	0.15 (0.03)	3	26.34	> 0.005 ***	ANOVA	0.81	0.24
Chromium	0,07	ug/g	Cr	<i>A. balsamea</i>	0.56 (0.2)	0.43 (0.06)	0.35 (0.07)	0.16 (0.02)	4	72.36	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Copper	0,07	ug/g	Cu	<i>A. balsamea</i>	7.94 (3.56)	5.58 (2.43)	11.98 (4.77)	5.13 (0.28)	3	1.72	0.23 -	ANOVA	0.95	0.05
Iron	0,17	ug/g	Fe	<i>A. balsamea</i>	84.55 (24.59)	76.83 (10.53)	87.72 (22.83)	42.23 (3.47)	4	70.7	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Potassium	5	ug/g	K	<i>A. balsamea</i>	5982.5 (450.04)	4080 (384.64)	3790 (324.01)	7477.5 (319.96)	4	72.36	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Magnesium	0,5	ug/g	Mg	<i>A. balsamea</i>	868.75 (91.46)	997.5 (24.79)	874.25 (31.5)	841.25 (27.33)	3	2.96	0.09 ·	ANOVA	0.12	0.25
Manganese	0,02	ug/g	Mn	<i>A. balsamea</i>	137.6 (22.7)	158.61 (59.9)	137.28 (33.71)	174.71 (23.76)	3	0.23	0.88 -	ANOVA	0.22	0.64
Nitrogen	0,01	%	N%	<i>A. balsamea</i>	0.75 (0.02)	0.58 (0.01)	0.52 (0.02)	1.74 (0.07)	4	72.37	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0

Table G.4 Results of statistical analyses and comparison tests on chemical concentrations in conifer needles. (suite)

Chemical	MDL	Unit	Variable	Species	WR	RCW/WR	RCWxWR	TS	DF	Stat	P-value	Test	Shapiro test	Levene test
Sodium	1	ug/g	Na	<i>A. balsamea</i>	44 (1.78)	116 (45.46)	52 (8.19)	28.75 (5.45)	4	72.37	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Nickel	0,84	ug/g	Ni	<i>A. balsamea</i>	3.67 (0.48)	1.81 (0.34)	1.49 (0.08)	4.1 (0.71)	4	72.36	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Phosphorus	4	ug/g	P	<i>A. balsamea</i>	843.75 (17.46)	1012.75 (80.54)	879.75 (63.38)	1770 (98.06)	3	51.65	> 0.005 ***	ANOVA	0.52	0.41
Sulfur	0,8	ug/g	S	<i>A. balsamea</i>	1109.47 (64.82)	763.36 (82.9)	633.72 (52.01)	1735.87 (105.12)	3	45.04	> 0.005 ***	ANOVA	0.25	0.52
Selenium	0,8	ug/g	Se	<i>A. balsamea</i>	0.85 (0.05)	0.84 (0.04)	0.8 (0)	0.8 (0)	4	72.75	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Silicon	3	ug/g	Si	<i>A. balsamea</i>	512 (196.95)	337.5 (268.24)	274.5 (240.24)	241.75 (58.11)	3	0.61	0.62 -	ANOVA	0.76	0.78
Strontium	0,5	ug/g	Sr	<i>A. balsamea</i>	31.38 (4.89)	36.3 (2.05)	38.75 (5.28)	22.55 (1.31)	3	3.85	0.05 ·	ANOVA	0.62	0.07
Zinc	0,17	ug/g	Zn	<i>A. balsamea</i>	21.66 (2.56)	25.15 (2.79)	24.05 (2.51)	41.29 (2.26)	3	12.46	> 0.005 ***	ANOVA	0.11	0.88
Aluminium	1	ug/g	Al	<i>P. banksiana</i>	30 (2.12)	54.5 (12.97)	44.75 (10.23)	48.75 (5.6)	4	72.37	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Arsenic	0,84	ug/g	As	<i>P. banksiana</i>	15.15 (3.2)	17.38 (9.21)	14.35 (5.61)	3.73 (0.51)	3	1.38	0.31 -	ANOVA	0.05	0.36
Boron	3	ug/g	B	<i>P. banksiana</i>	27.5 (1.85)	42.75 (18.29)	40 (18.8)	26.75 (1.25)	4	70.71	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Barium	0,5	ug/g	Ba	<i>P. banksiana</i>	7.18 (1.18)	21.27 (13.15)	19.12 (12.64)	6.6 (0.84)	4	72.36	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Calcium	0,5	ug/g	Ca	<i>P. banksiana</i>	3455 (30.69)	3610 (571.5)	2752.5 (426.06)	2760 (135.89)	3	2.65	0.11 -	ANOVA	0.39	0.15
Cadmium	0,07	ug/g	Cd	<i>P. banksiana</i>	0.07 (0)	0.08 (0.01)	0.07 (0)	0.15 (0.02)	4	72.55	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0

Table G.4 Results of statistical analyses and comparison tests on chemical concentrations in conifer needles. (suite)

Chemical	MDL	Unit	Variable	Species	WR	RCW/WR	RCWxWR	TS	DF	Stat	P-value	Test	Shapiro test	Levene test	
Cobalt	0,07	ug/g	Co	<i>P. banksiana</i>	0.15 (0.01)	0.2 (0.06)	0.25 (0.11)	0.1 (0.02)	3	1.48	0.29	-	ANOVA	0.08	0.45
Chromium	0,07	ug/g	Cr	<i>P. banksiana</i>	0.19 (0.04)	0.31 (0.05)	0.27 (0.04)	0.13 (0.01)	3	6.88	0.01	*	ANOVA	0.24	0.56
Copper	0,07	ug/g	Cu	<i>P. banksiana</i>	1.48 (0.13)	1.47 (0.19)	2.27 (0.58)	4.41 (0.27)	3	25.69	> 0.005 ***		ANOVA	0.1	0.13
Iron	0,17	ug/g	Fe	<i>P. banksiana</i>	42.25 (5.52)	61.62 (6.58)	57.61 (8.99)	39.99 (2.02)	3	2.97	0.09	·	ANOVA	0.85	0.31
Potassium	5	ug/g	K	<i>P. banksiana</i>	4432.5 (234.64)	4535 (945.96)	3797.5 (226.32)	5960 (294.87)	4	72.36	> 0.005 ***		Kruskal-Wallis	0	0
Magnesium	0,5	ug/g	Mg	<i>P. banksiana</i>	698.25 (39.64)	819.5 (53.29)	838.75 (87.08)	994.75 (24.03)	3	4.71	0.02	*	ANOVA	0.76	0.31
Manganese	0,02	ug/g	Mn	<i>P. banksiana</i>	37.52 (5.22)	64.66 (13.32)	137.1 (75.34)	124.3 (11.37)	4	72.36	> 0.005 ***		Kruskal-Wallis	0	0
Nitrogen	0,01	%	N%	<i>P. banksiana</i>	0.68 (0.02)	0.63 (0.01)	0.64 (0.02)	1.66 (0.02)	3	744.58	> 0.005 ***		ANOVA	0.37	0.67
Sodium	1	ug/g	Na	<i>P. banksiana</i>	29.5 (6.49)	77.5 (43.35)	64 (36.74)	31 (2.65)	3	0.93	0.46	-	ANOVA	0.05	0.41
Nickel	0,84	ug/g	Ni	<i>P. banksiana</i>	2.3 (0.05)	1.93 (0.58)	1.36 (0.15)	2.29 (0.22)	4	72.36	> 0.005 ***		Kruskal-Wallis	0	0
Phosphorus	4	ug/g	P	<i>P. banksiana</i>	627.25 (36.96)	725.5 (16.92)	724.75 (32.32)	1410 (66.08)	3	120.25	> 0.005 ***		ANOVA	0.77	0.39
Sulfur	0,8	ug/g	S	<i>P. banksiana</i>	835.1 (42.53)	867.24 (105.84)	703.08 (52.07)	1289.69 (76.42)	3	27.34	> 0.005 ***		ANOVA	0.11	0.45
Selenium	0,8	ug/g	Se	<i>P. banksiana</i>	0.8 (0)	0.83 (0.03)	1.2 (0.4)	0.94 (0.13)	4	72.61	> 0.005 ***		Kruskal-Wallis	0	0
Silicon	3	ug/g	Si	<i>P. banksiana</i>	254.5 (61.96)		252.75 (80.51)	145.5 (58.54)	3	0.59	0.64	-	ANOVA	0.16	0.35

Table G.4 Results of statistical analyses and comparison tests on chemical concentrations in conifer needles. (suite)

Chemical	MDL	Unit	Variable	Species	WR	RCW/WR	RCW _x WR	TS	DF	Stat	P-value	Test	Shapiro test	Levene test
Strontium	0,5	ug/g	Sr	<i>P. banksiana</i>	6.75 (0.36)	10.45 (4.85)	11.53 (7.54)	7.25 (0.51)	4	72.36	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	0	0
Zinc	0,17	ug/g	Zn	<i>P. banksiana</i>	19.39 (1.72)	18.1 (3.03)	23.19 (2.28)	46.41 (3)	3	31.01	> 0.005 ***	ANOVA	0.6	0.7

Table G.5 Results of statistical analyses and comparison tests on conifer survival.

Species	Variable	Year	WR	RCW/WR	RCWxWR	TS	DF	Stat	P-value	Test	Transformation	Shapiro test	Levene test	
<i>A. balsamea</i>	Difference	2019	1.5 (0.65)	1.75 (0.85)	1 (0.71)	1.5 (0.65)	3	0.3	0.83	-	One-way ANOVA	No	0.32	0.96
<i>A. balsamea</i>	Difference	2020	1.25 (0.95)	2 (1.08)	2 (0.41)	1.25 (0.48)	3	0.31	0.82	-	One-way ANOVA	No	0.1	0.58
<i>A. balsamea</i>	Difference	2021	2.5 (0.65)	4.75 (1.38)	6.5 (1.66)	1.5 (0.29)	3	4.28	0.04	*	One-way ANOVA	No	0.68	0.26
<i>A. balsamea</i>	Percentage	2019	87.5 (5.38)	85.42 (7.12)	91.67 (5.89)	87.5 (5.38)	3	0.3	0.83	-	One-way ANOVA	No	0.32	0.96
<i>A. balsamea</i>	Percentage	2020	88.41 (8.59)	79.17 (11.02)	81.76 (3.51)	88.79 (4.14)	3	0.41	0.75	-	One-way ANOVA	No	0.19	0.33
<i>A. balsamea</i>	Percentage	2021	70.54 (8.67)	44.85 (8.21)	30.91 (14.93)	83.61 (3.38)	3	6.53	0.01	*	One-way ANOVA	No	0.83	0.43
<i>P. banksiana</i>	Difference	2019	0.5 (0.29)	0.5 (0.5)	1 (0.41)	1.75 (0.75)	3	1.31	0.32	-	One-way ANOVA	No	0.36	0.28
<i>P. banksiana</i>	Difference	2020	0.5 (0.29)	0.25 (0.25)	0.5 (0.29)	0 (0)	3	3	0.39	-	Kruskal-Wallis rank sum test	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Difference	2021	4.25 (1.8)	6.5 (2.6)	7.25 (1.75)	0.75 (0.48)	3	2.57	0.1	-	One-way ANOVA	No	0.45	0.55
<i>P. banksiana</i>	Percentage	2019	98.08 (1.11)	98.08 (1.92)	96.15 (1.57)	93.27 (2.88)	3	1.31	0.32	-	One-way ANOVA	No	0.36	0.28
<i>P. banksiana</i>	Percentage	2020	98 (1.15)	99.04 (0.96)	97.96 (1.18)	100 (0)	3	3.55	0.31	-	Kruskal-Wallis rank sum test	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Percentage	2021	82.53 (7.6)	74.06 (10.44)	71.16 (6.55)	96.83 (2.07)	3	2.48	0.11	-	One-way ANOVA	No	0.38	0.55

Table G.6 Results of statistical analyses and comparison tests on conifer growth.

Species	Variable		Year	WR	RCW/WR	RCWxWR	TS	DF	Stat	P-value	Test	Transformation	Shapiro test	Levene test	
<i>A. balsamea</i>	Cone (cm³)	volume	2018	4.49 (0.21)	4.34 (0.28)	3.92 (0.3)	4.57 (0.24)	3	1.82	0.15	-	ANOVA	Square root	0.08	0.28
<i>A. balsamea</i>	Cone (cm³)	volume	2019	4.83 (0.32)	4.88 (0.42)	4.49 (0.3)	5.67 (0.42)	3	1.91	0.13	-	ANOVA	Square root	0.32	0.06
<i>A. balsamea</i>	Cone (cm³)	volume	2020	7.45 (0.46)	6.68 (0.52)	5.65 (0.29)	16.75 (1.64)	3	42.06	> 0.005 ***		Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>A. balsamea</i>	Cone (cm³)	volume	2021	9.12 (0.81)	6.94 (1.06)	6.37 (1.25)	53.66 (8.09)	3	43.14	> 0.005 ***		Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>A. balsamea</i>	Diameter (mm)		2018	4.38 (0.1)	4.19 (0.11)	4.17 (0.1)	4.5 (0.1)	3	7.56	0.06	·	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>A. balsamea</i>	Diameter (mm)		2019	4.29 (0.12)	4.28 (0.16)	4.23 (0.11)	4.68 (0.13)	3	7.96	0.05	*	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>A. balsamea</i>	Diameter (mm)		2020	5.11 (0.12)	5.05 (0.15)	4.83 (0.11)	7.33 (0.28)	3	56.46	> 0.005 ***		Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>A. balsamea</i>	Diameter (mm)		2021	5.43 (0.27)	5.08 (0.35)	4.79 (0.37)	10.57 (0.65)	3	45.44	> 0.005 ***		Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>A. balsamea</i>	Height (cm)		2018	22.09 (0.56)	22.5 (0.61)	20.26 (0.66)	20.99 (0.64)	3	2.76	0.04	*	ANOVA	No	0.18	0.86
<i>A. balsamea</i>	Height (cm)		2019	24.13 (0.58)	23.43 (0.75)	22.77 (0.69)	23.4 (0.84)	3	0.59	0.62	-	ANOVA	No	0.25	0.35
<i>A. balsamea</i>	Height (cm)		2020	26.41 (0.85)	23.77 (0.73)	22.72 (0.75)	26.8 (1.1)	3	5.15	> 0.005 ***		ANOVA	No	0.78	0.06
<i>A. balsamea</i>	Height (cm)		2021	27.5 (0.97)	23.94 (1.43)	24.08 (1.61)	37.77 (1.85)	3	16.24	> 0.005 ***		ANOVA	Square root	0.23	0.08
<i>P. banksiana</i>	Cone (cm³)	volume	2018	5.18 (0.22)	5.17 (0.21)	4.93 (0.25)	5.09 (0.24)	3	0.58	0.63	-	ANOVA	Square root	0.18	0.42
<i>P. banksiana</i>	Cone (cm³)	volume	2019	12.62 (0.58)	13.52 (0.58)	12.8 (0.56)	18.64 (0.91)	3	15.68	> 0.005 ***		ANOVA	Logarithmic	0.07	0.23

Table G.6 Results of statistical analyses and comparison tests on conifer growth. (suite)

Species	Variable		Year	WR	RCW/WR	RCWxWR	TS	DF	Stat	P-value	Test	Transformation	Shapiro test	Levene test
<i>P. banksiana</i>	Cone	volume	2020	16.12 (0.83)	14.64 (0.62)	16.27 (0.84)	85.48 (5.44)	3	179.94	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Cone	volume	2021	24.88 (1.42)	18.59 (1.07)	22.08 (1.67)	430.04 (34.89)	3	204.71	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Diameter	(mm)	2018	4.51 (0.07)	4.41 (0.07)	4.32 (0.09)	4.4 (0.09)	3	3.23	0.36 -	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Diameter	(mm)	2019	5.72 (0.1)	5.88 (0.09)	5.78 (0.1)	6.78 (0.14)	3	42.95	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Diameter	(mm)	2020	6.48 (0.12)	6.23 (0.09)	6.55 (0.12)	12.51 (0.3)	3	200.75	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Diameter	(mm)	2021	7.47 (0.15)	6.61 (0.15)	7.14 (0.2)	21.21 (0.62)	3	205.34	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Height	(cm)	2018	23.11 (0.41)	24.18 (0.42)	23.39 (0.47)	23.38 (0.34)	3	4.25	0.24 -	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Height	(cm)	2019	31.69 (0.58)	32.86 (0.58)	31.56 (0.66)	33.96 (0.6)	3	3.7	0.01 *	ANOVA	Square	0.36	0.98
<i>P. banksiana</i>	Height	(cm)	2020	34.13 (0.66)	34.38 (0.61)	33.8 (0.7)	45.73 (1.13)	3	83.39	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	-	0	0
<i>P. banksiana</i>	Height	(cm)	2021	39.58 (0.8)	38.41 (0.81)	37.7 (0.91)	77.06 (1.97)	3	175.74	> 0.005 ***	Kruskal-Wallis	-	0	0

Table G.7 Results of statistical analyses and comparison tests on *P. banksiana* biomass.

Species	Variable	Year	Mean (S.E.)				DF	Stat	P-value	Test	Transformation
			WR	RCW/WR	RCW _x WR	TS					
<i>P. banksiana</i>	Aerial biomass (g)	2021	10.48 (1.49)	6.98 (0.65)	6.25 (0.51)	205.55 (29.38)	3	163.36	> 0.005 ***	ANOVA	Logarithmic
	Root biomass (g)	2021	17.12 (2.79)	18.73 (1.28)	15.28 (2.38)	96.27 (16.93)	3	31.13	> 0.005 ***	ANOVA	Logarithmic
	Total biomass (g)	2021	26.6 (2.81)	24.72 (1.65)	20.53 (2.59)	300.82 (43.8)	3	97.88	> 0.005 ***	ANOVA	Logarithmic

Table G.8 Chemical characterization of treatments (N = 4). RCWxWR: RCW mixed with waste rock, RCW/WR - RCW : RCW on top of waste rock in cells where RCW was mulched on top of waste rock, RCW/WR - WR: waste rock under RCW in cells where RCW was mulched on top of waste rock, WR: waste rock in cells where there was only waste rock, TS/WR - WR: waste rock under topsoil in cells where there was topsoil on top of waste rock, TS/WR - WR: black soil from cells where there was topsoil on top of waste rock. Criteria A, B and C, concerning Quebec legislation on elemental concentrations in soils. Values are means, values in brackets are standard errors.

Element	Unit	Provincial regulatory criteria			RCWxWR	RCW/WR - RCW	RCW/WR - WR	WR	TS/WR - WR	TS/WR - TS
		A	B	C						
Aluminium	ug/g	-	-	-	17300 (641.61)	6180 (1181.35)	17300 (212.13)	17325 (1191.2)	16200 (521.22)	9240.9 (303.33)
Arsenic	ug/g	6	30	50	310 (71.88)	153.55 (112.37)	196.25 (6.56)	296.25 (58.37)	137.55 (33.91)	11.66 (3.07)
Barium	ug/g	340	500	2000	134 (11.6)	78.25 (7.32)	143.75 (10.58)	147.25 (8.99)	142.25 (8.21)	76.65 (3.21)
Beryllium	ug/g	-	-	-	< 0.2 (0)	< 0.2 (0)	< 0.2 (0)	< 0.2 (0)	0.22 (0.02)	0.25 (0.01)
Carbon	%	-	-	-	0.79 (0.25)	28.37 (2.27)	0.38 (0.04)	0.39 (0.16)	10.46 (0.52)	21.49 (0.37)
Calcium	ug/g	-	-	-	11160 (2712.49)	8080 (857.88)	8115 (1138.76)	9380 (3245.98)	11440 (848.49)	9511.9 (282.9)
Cadmium	ug/g	1.5	5	20	< 0.2 (0)	< 0.2 (0)	< 0.2 (0)	< 0.2 (0)	< 0.2 (0)	0.46 (0.03)
Cobalt	ug/g	25	50	300	35.75 (2.75)	16.75 (6.45)	35.5 (1.04)	39.25 (4.64)	26.25 (2.02)	6.62 (0.41)
Conductivity	uS/cm	-	-	-	185.95 (18.15)	208.57 (34.7)	177.1 (19.87)	242.22 (31.34)	595 (70.92)	1520.25 (24.92)
Chromium	ug/g	100	250	800	323.75 (39.63)	341.75 (60.93)	287 (25.95)	321.75 (54.73)	203 (31.2)	51.75 (2.99)

Table G.8 Chemical characterization of treatments (N = 4). RCWxWR: RCW mixed with waste rock, RCW/WR - RCW : RCW on top of waste rock in cells where RCW was mulched on top of waste rock, RCW/WR - WR: waste rock under RCW in cells where RCW was mulched on top of waste rock, WR: waste rock in cells where there was only waste rock, TS/WR - WR: waste rock under topsoil in cells where there was topsoil on top of waste rock, TS/WR - WR: black soil from cells where there was topsoil on top of waste rock.

Criteria A, B and C, concerning Quebec legislation on elemental concentrations in soils. Values are means, values in brackets are standard errors. (suite)

Element	Unit	Provincial regulatory criteria			RCWxWR	RCW/WR - RCW	RCW/WR - WR	WR	TS/WR - WR	TS/WR - TS
		A	B	C						
Copper	ug/g	50	100	500	70.4 (10.61)	163.82 (52.98)	57.2 (2.61)	61.4 (2.95)	67.2 (6.19)	30.34 (0.75)
Iron	ug/g	-	-	-	33150 (366.29)	12852.5 (1682.49)	33700 (212.13)	33125 (1840.01)	25050 (1299.04)	8829.84 (313.49)
Mercury	ng/g	0.2	2	10	-	-	-	-	-	90.49 (1.74)
Potassium	ug/g	-	-	-	4812.5 (299.26)	1957.5 (205.04)	5037.5 (45.53)	5240 (245.36)	3540 (311.31)	885.7 (57.24)
Magnesium	ug/g	-	-	-	15550 (1365.34)	5987.5 (1581.86)	13900 (467.26)	15150 (1875.5)	10025 (943.41)	2925.4 (146.8)
Manganese	ug/g	1000	1000	2200	525.75 (16.09)	194 (31.06)	513.25 (21.75)	519 (57.61)	600.5 (24.39)	490.6 (24.48)
Molybdenum	ug/g	2	10	40	< 5 (0)	< 5 (0)	< 5 (0)	< 5 (0)	< 5 (0)	< 5 (0)
Nitrogen	%	-	-	-	0.01 (0)	0.42 (0.03)	< 0.01 (0)	< 0.01 (0)	0.51 (0.03)	1.21 (0.02)
Sodium	ug/g	-	-	-	138 (8.28)	124.75 (39.64)	145.75 (22.4)	129.25 (15.25)	179 (11.2)	178.15 (23.65)
Nickel	ug/g	50	100	500	213.5 (28.63)	177 (51.29)	202.25 (8.82)	224 (35.78)	139.25 (19.93)	32.61 (2.88)

Table G.8 Chemical characterization of treatments (N = 4). RCWxWR: RCW mixed with waste rock, RCW/WR - RCW : RCW on top of waste rock in cells where RCW was mulched on top of waste rock, RCW/WR - WR: waste rock under RCW in cells where RCW was mulched on top of waste rock, WR: waste rock in cells where there was only waste rock, TS/WR - WR: waste rock under topsoil in cells where there was topsoil on top of waste rock, TS/WR - WR: black soil from cells where there was topsoil on top of waste rock.

Criteria A, B and C, concerning Quebec legislation on elemental concentrations in soils. Values are means, values in brackets are standard errors. (suite)

Element	Unit	Provincial regulatory criteria			RCWxWR	RCW/WR - RCW	RCW/WR - WR	WR	TS/WR - WR	TS/WR - TS
		A	B	C						
Phosphorus	ug/g	-	-	-	598 (17.2)	406.5 (18.28)	652.5 (21.87)	588 (17.84)	776 (76.7)	561.5 (20.17)
Lead	ug/g	50	500	1000	15.75 (0.63)	9.75 (2.95)	19.5 (1.26)	18.75 (0.95)	15.25 (0.75)	7.77 (0.92)
pH	--	-	-	-	7.51 (0.11)	5.75 (0.14)	7.2 (0.15)	7.16 (0.12)	5.72 (0.12)	4.52 (0.04)
Sulfur	ug/g	-	-	-	1830 (307.11)	1255 (96.13)	1857.5 (177.36)	1605 (52.68)	2325 (134.75)	1759.8 (68.12)
Silicon	ug/g	-	-	-	130.75 (11.07)	176.5 (12.02)	137.75 (3.33)	118.5 (4.48)	166 (2.86)	649.2 (45.26)
Strontium	ug/g	-	-	-	30.5 (5.39)	41.5 (3.48)	25.5 (3.52)	31 (9.61)	45.25 (2.02)	46.8 (1.29)
Titanium	ug/g	-	-	-	836.75 (41.16)	291.75 (34.48)	828.5 (14.67)	835.25 (49.62)	720.75 (27.19)	313.95 (12.02)
Total Carbon	Organic %	-	-	-	-	-	-	-	-	20.31 (0.35)
Vanadium	ug/g	-	-	-	54.7 (3.81)	19.73 (5.2)	52.15 (1.63)	55.65 (5.62)	44.17 (2.53)	20.34 (0.68)
Zinc	ug/g	140	500	1500	75.28 (1.48)	152.32 (27.81)	75.72 (1.64)	74.2 (3.31)	61.95 (3.31)	27.23 (1.26)

ANNEXE H MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE DU CHAPITRE 5

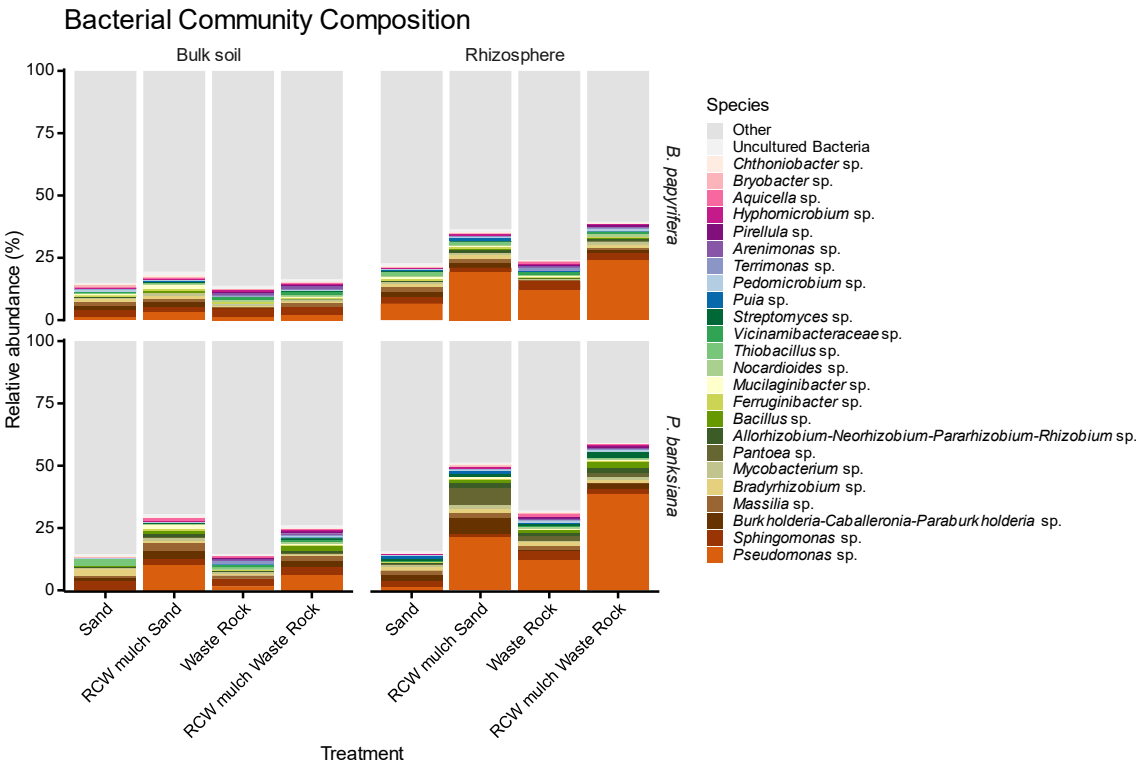


Figure H.1 Taxa bar chart of the bacterial community composition according to treatments, compartment and tree species

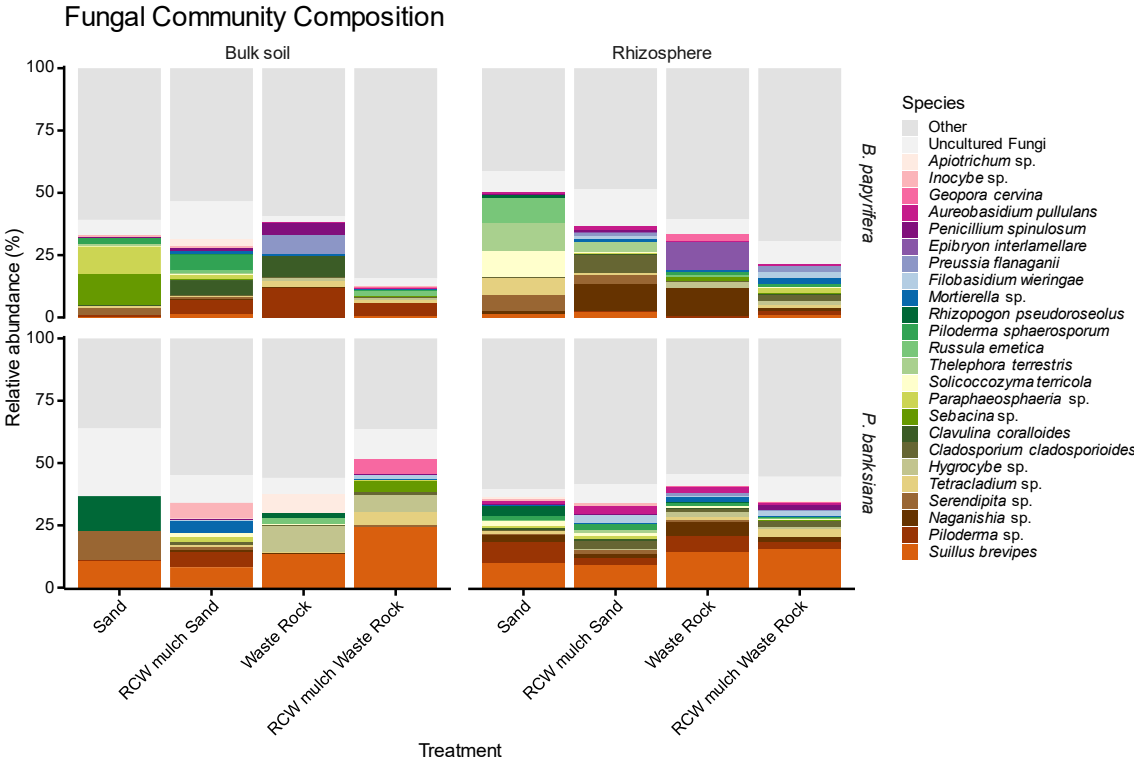


Figure H.2 Taxa bar chart of the fungal community composition according to treatments, compartment and tree species

Table H.1 Fungal functional relative abundance according to treatments, tree species and compartment (mean $\pm$ S.E.)

Function	Tree species	Compartment	Sand	Waste Rock	RCW/Sand	RCW/Waste Rock
Arbuscular mycorrhizal	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	0.01 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.05	0.04 $\pm$ 0.04	0.08 $\pm$ 0.04
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	0 $\pm$ 0	0.11 $\pm$ 0.04	0.04 $\pm$ 0.03	0.1 $\pm$ 0.04
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	0 $\pm$ 0	0.02 $\pm$ 0.02	0 $\pm$ 0	0.08 $\pm$ 0.05
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	0.03 $\pm$ 0.03	0.1 $\pm$ 0.05	0.04 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.05
Ectomycorrhizal	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	42.29 $\pm$ 5.32	23.24 $\pm$ 8.81	30.24 $\pm$ 6.76	24.43 $\pm$ 5.22
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	34.13 $\pm$ 18.3	22.12 $\pm$ 12.79	37.97 $\pm$ 10.35	53.42 $\pm$ 16.34
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	29.75 $\pm$ 8.32	22.28 $\pm$ 9.44	10.17 $\pm$ 3.25	16.7 $\pm$ 8.48
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	37.58 $\pm$ 12.62	39.04 $\pm$ 11.64	35.35 $\pm$ 5.93	49.02 $\pm$ 8.14
Endophyte	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	2.72 $\pm$ 0.41	4.2 $\pm$ 0.5	3.75 $\pm$ 0.32	3.52 $\pm$ 0.57
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	0.29 $\pm$ 0.29	2.78 $\pm$ 0.84	3.34 $\pm$ 0.81	1.99 $\pm$ 0.38
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	3.18 $\pm$ 0.69	2.55 $\pm$ 0.61	4.18 $\pm$ 0.44	3.99 $\pm$ 0.72
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	2.47 $\pm$ 0.85	2.42 $\pm$ 0.39	2.48 $\pm$ 0.37	1.84 $\pm$ 0.44
Plant pathogen	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	2.94 $\pm$ 0.43	3.84 $\pm$ 0.74	3.75 $\pm$ 0.39	3.61 $\pm$ 0.67
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	1.96 $\pm$ 1.2	3.24 $\pm$ 0.53	2.62 $\pm$ 0.95	2.72 $\pm$ 0.73
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	1.96 $\pm$ 0.35	4.04 $\pm$ 0.77	4.48 $\pm$ 0.27	3.8 $\pm$ 0.24
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	2.88 $\pm$ 0.87	1.84 $\pm$ 0.51	1.89 $\pm$ 0.56	2.14 $\pm$ 0.24
Wood saprotroph	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	2.64 $\pm$ 0.36	2.37 $\pm$ 0.56	3.41 $\pm$ 0.32	3.35 $\pm$ 0.83
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	0.95 $\pm$ 0.43	2.49 $\pm$ 0.91	3.04 $\pm$ 0.54	2.48 $\pm$ 0.76
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	1.69 $\pm$ 0.7	3.44 $\pm$ 1.17	3.6 $\pm$ 0.6	2.77 $\pm$ 0.2
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	2.89 $\pm$ 0.92	1.73 $\pm$ 1.15	2.84 $\pm$ 0.63	2.69 $\pm$ 0.8

Table H.2 Bacterial functional relative abundance according to treatments, tree species and compartment (mean $\pm$ S.E.)

Function	Tree species	Compartment	Sand	Waste Rock	RCW/Sand	RCW/Waste Rock
Anaerobic chemoheterotrophy	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	0.48 $\pm$ 0.06	0.6 $\pm$ 0.1	0.69 $\pm$ 0.11	0.68 $\pm$ 0.06
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	0.27 $\pm$ 0.06	0.28 $\pm$ 0.09	0.49 $\pm$ 0.13	0.44 $\pm$ 0.03
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	0.22 $\pm$ 0.05	0.3 $\pm$ 0.1	0.44 $\pm$ 0.05	0.53 $\pm$ 0.04
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	0.31 $\pm$ 0.12	0.26 $\pm$ 0.05	0.34 $\pm$ 0.1	0.17 $\pm$ 0.07
Aromatic compound degradation	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	0.17 $\pm$ 0.06	1.76 $\pm$ 0.51	0.29 $\pm$ 0.13	1.44 $\pm$ 0.31
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	0.06 $\pm$ 0.06	1.07 $\pm$ 0.51	0.45 $\pm$ 0.31	1.21 $\pm$ 0.1
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	0.58 $\pm$ 0.26	0.75 $\pm$ 0.22	0.5 $\pm$ 0.28	1.73 $\pm$ 0.49
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	0.13 $\pm$ 0.08	0.75 $\pm$ 0.37	0.29 $\pm$ 0.18	1.04 $\pm$ 0.23
Fermentation	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	0.22 $\pm$ 0.1	0.47 $\pm$ 0.11	0.59 $\pm$ 0.09	0.58 $\pm$ 0.04
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	0.17 $\pm$ 0.04	0.19 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.11	0.38 $\pm$ 0.03
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	0.18 $\pm$ 0.04	0.25 $\pm$ 0.05	0.3 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.04
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	0.26 $\pm$ 0.11	0.13 $\pm$ 0.05	0.39 $\pm$ 0.1	0.22 $\pm$ 0.06
Nitrogen fixation	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	1.24 $\pm$ 0.09	1.09 $\pm$ 0.25	1.63 $\pm$ 0.13	1.37 $\pm$ 0.13
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	0.99 $\pm$ 0.44	0.7 $\pm$ 0.1	1.02 $\pm$ 0.24	0.97 $\pm$ 0.11
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	1.06 $\pm$ 0.18	0.4 $\pm$ 0.11	1.29 $\pm$ 0.16	1.09 $\pm$ 0.2
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	0.94 $\pm$ 0.07	0.38 $\pm$ 0.15	0.8 $\pm$ 0.22	0.71 $\pm$ 0.11
Ureolysis	<i>P. banksiana</i>	Rhizosphere	0.98 $\pm$ 0.22	1.01 $\pm$ 0.13	0.67 $\pm$ 0.09	0.89 $\pm$ 0.13
	<i>P. banksiana</i>	Bulk soil	0.37 $\pm$ 0.21	0.39 $\pm$ 0.2	0.83 $\pm$ 0.14	0.85 $\pm$ 0.13
	<i>B. papyrifera</i>	Rhizosphere	0.49 $\pm$ 0.12	0.49 $\pm$ 0.08	0.85 $\pm$ 0.04	0.99 $\pm$ 0.1
	<i>B. papyrifera</i>	Bulk soil	0.29 $\pm$ 0.13	0.59 $\pm$ 0.14	0.66 $\pm$ 0.23	0.72 $\pm$ 0.18