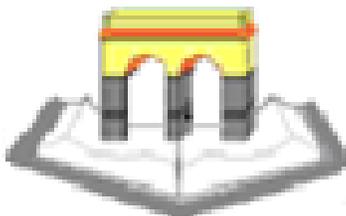


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MUSTAPHA STAMBOULI DE MASCARA
Faculté des Sciences Exactes
Département de Chimie



THÈSE

En vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences

Spécialité : CHIMIE

Etude du pouvoir auto épurateur de quelques plantes (la phytoremédiation)

Présentée par :

M^{me}. ATMA Wafa

Soutenue le 21/12/2016 à l'université de Mascara devant le

Président	M^r. BENYOUCEF Abdelghani	Pr	Université M.S de Mascara.
Examinatrice	M^{me} DJAFRI Ayada	Pr	Université A.B. d'Oran 1.
Examinatrice	M^{me} DJAFRI Fatiha	Pr	Université A.B. d'Oran 1.
Examineur	M^r. SLIMANI Miloud	Pr	Université T.M. de Saïda.
Rapporteur	M^r. MEDDAH Boumediene	Pr	Université M.S de Mascara.
Co-Rapporteur	M^r. BENABDELI Khéloufi	Pr	Université M.S de Mascara.

Année Universitaire : 2016/2017

Résumé :

La phytoremédiation du Nickel Ni et du Cadmium Cd, appliquée durant cinq semaines à l'aide de l'EDTA et les solutions nutritives, a été étudiée chez trois plantes : *Arundo donax* L., *Zea mays* L. et *Helianthus annuus* L.. Ce travail étudie le potentiel de plantes pour la phytoremédiation des sols et des eaux contaminés par le Nickel et le Cadmium. Les plantes ont été cultivées en solution et dans des pots contenant un sol contaminé artificiellement avec l'augmentation des traitements de Ni et Cd (0, 10, 50, 100 mg / L) associée ou non à l'éthylènediaminetétra acide acétique (EDTA) et les solutions nutritives NPK (15 :15 :15) et Hoagland . L'accumulation de Nickel dans différentes parties des plantes a été analysée par AAS. Les résultats obtenus montrent qu'en l'absence d'amendement, le Ni s'accumule dans les tiges et les feuilles. L'addition de NPK au sol réduit de manière significative la concentration de Ni dans les tiges et les feuilles. L'application de l'EDTA améliore l'absorption de Ni dans les racines. Le facteur de translocation (TF) était supérieur à 1 ce qui catégorise la plante comme un excellent candidat pour la phytoextraction de Ni. L'aspect morphologique, anatomique et teneur en pigments chlorophylliennes ont été retenus comme étant des indices probables de phyto-toxicité au Ni et Cd. L'histologie a été étudiée afin de mieux connaître l'anatomie et la structure interne de l'espèce et de mettre en évidence les éventuelles adaptations histologiques de la plante aux conditions de stress métallique. Nous avons comparé les modifications entre les plantes témoins et celles contaminées et assistées. Ainsi, au niveau de la racine et la tige, par la mesure de la longueur et la biomasse, l'histométrie de la tige et la de racine. Les résultats font apparaître une variabilité de l'action de Ni et Cd selon l'organe, la nature et la concentration du traitement. La structure anatomique des racines et des tiges traitées n'a montré aucune anomalie significative. Les seuls changements au niveau des tiges sont marqués par la diminution de la taille des cellules parenchymateuses, ainsi que celui du diamètre des vaisseaux de xylème et l'augmentation de leur nombre, sous l'action de Ni et solution nutritive. Enfin, les plantes *Arundo donax* L., *Zea mays* L. et *Helianthus annuus* L. ont été appropriés pour la phytoextraction des sols et des eaux contaminés et apporte une contribution aux études sur le potentiel des technologies de la phytoremédiation en Algérie.

Mot clés : phytoremediation, Nickel, Cadmium, accumulation, chlorophylles, morphologie, histométrie. *Zea mays* L., *Helianthus annuus* L. et *Arundo donax* L..

ABSTRACT

Phytoremediation of Nickel Ni and Cadmium Cd, applied for five weeks using EDTA and nutrient solutions, has been studied in three plants: *Arundo donax* L. and *Zea mays* *Helianthus annuus* L.. This work studied the potential of three plants for phytoremediation of Nickel and Cadmium contaminated soils and water. Plants were grown in solution and in pots containing an artificially contaminated soil with increasing treatment of Ni and Cd (0, 10, 50, 100 mg / L) with or without acetic acid ethylenediaminetetraacetic (EDTA) , NPK fertilizer solutions (15: 15: 15) and Hoagland's solution . The accumulation was analysed by AAS. Obtained results indicate that plants were able to survive with high Ni and Cd content. The growth and the concentrations of Ni and Cd in the plant tissues were less affected . In the absence of the amendments, Ni was accumulated in the stems and leaves. However, the addition of NPK significantly reduced Ni concentration in the stems and leaves. The application of the EDTA enhanced Ni uptake in roots. Translocation factor (TF) was higher than 1 which categorizes *Arundo donax* L. and *Zea mays* L. as a great candidate for Ni-phytoextraction. . The morphology, anatomy and chlorophyll pigment content were identified as probable signs of phyto-toxicity to nickel and cadmium. The histology was studied to better understand the anatomy and internal structure of the species and to highlight any histological adaptations of the plant to the conditions of metal stress. This study compared the changes between the control plants and those infected and assisted. Thus, at the root and stem, by measuring the languor and biomass, the anatomy of the stem and the root. The results show a variability effect of Cd and Ni according to the organ, the nature and concentration of the treatment. The anatomical structure of roots and stems treated showed no significant abnormality. Changes in stem are marked by the decrease in the size of parenchymal cells as well as that of the diameter of the xylem vessels and the increase in their number under the influence of Ni and nutrient solution. Finally, *Arundo Donax* L. plants, *Zea mays* L. and *Helianthus annuus* L. were suitable for phytoremediation of Ni. This investigation provides a contribution to the studies on the potential of phytoremediation technologies in Algeria.

Key words: phytoremediation, Nickel Cadmium accumulation, chlorophylls, morphology, histology. *Arundo Donax* L., *Zea mays* L. and *Helianthus annuus* L.

ملخص

تنقية التربة من النيكل و الكاديوم باستخدام النبات، طبق لمدة خمسة أسابيع باستخدام EDTA و المحاليل الغذائية، وقد درست في ثلاث نباتات: القصب والذرة و دوار الشمس. في هذا العمل قمنا بدراسة إمكانات النباتات لتنقية الماء و التربة الملوثة بالنيكل و الكاديوم وقد نمت النباتات في محلول مغذي وفي الأواني التي تحتوي على التربة الملوثة بشكل مصطنع مع زيادة تركيز النيكل و الكاديوم (0، 10، 50، 100 ملغ / لتر) مع أو بدون EDTA و محلول الأسمدة NPK (15:15:15) و محلول Hoagland. تم تحليل تراكم المعادن باستعمال AAS و تشير النتائج أن النباتات كانت قادرة على البقاء على قيد الحياة مع ارتفاع تركيز النيكل و الكاديوم وكان النمو أقل تأثراً بتركيزات النيكل و الكاديوم في الأنسجة النباتية. في غياب التعديلات، تراكمت المعادن في السيقان والأوراق. ومع ذلك، فإن إضافة NPK أدى إلى خفض كبير تركيز النيكل في السيقان والأوراق. تطبيق EDTA أدى إلى تعزيز امتصاص النيكل في الجذور. وثمة عامل النبات (TF) أعلى من (1) الذي يصنف النباتات كمرشح كبير ل phytoextraction بشكل متفاوت. دراسة النمو، والتشريح وصبغ الكلوروفيل علامات محتملة للسمية النباتية من النيكل و الكاديوم. وقد أدى علم الأنسجة إلى فهم أفضل للتشريح و التركيب الداخلي لأنواع وتسلط الضوء على أي التعديلات النسيجية من النبات لظروف الإجهاد المعادن. قارنت هذه الدراسة التغييرات بين مراقبة تراكم المعادن في الجذر والساق، عن طريق قياس الطول و الكتلة الحيوية، و علم التشريح من الساق و الجذر. أظهرت النتائج تأثير تقلب الكاديوم و النيكل وفقاً للنبتة، وطبيعة وتركيز العلاج. لم يظهر التركيب التشريحي لجذور وسيقان النبات أي خلل كبير. تم ملاحظة التغييرات في الساق بانخفاض في حجم الخلايا وكذلك من قطر الأوعية الخشب وزيادة عددهم تحت تأثير النيكل و المحلول المغذي. وأخيراً، النباتات مناسبة لعلاج التربة من النيكل. يوفر هذا التحقيق مساهمة في دراسات حول إمكانات التكنولوجيا علاج التربة و المياه باستخدام النبات في الجزائر.

الكلمات المفتاحية: تنقية التربة باستخدام النبات، النيكل، الكاديوم، التراكم، اليخضور، التشريح، الذرة، دوار الشمس، القصب.

Remerciements

Louange à ALLAH Tout Puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour mener à bien ce modeste travail.

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de Bioconversion Génie Microbiologique et Sécurité Sanitaire (LBGMSS) et au de laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologiques et la Géomatique (LRSBG), Université de Mustapha Stambouli de Mascara.

Je tiens tout d'abord à remercier **Professeur MEDDAH Boumediene** pour l'encadrement, les encourageantes et pour sa disponibilité et ses orientation qu'il m'a accordés au cours de la réalisation de ce travail de recherche.

Je tiens à remercier également **Professeur BENABDELI Kheloufi**, pour son soutien constant durant ma thèse et pour ses compétences scientifiques et ses conseils qui m'ont permis de mener à bien ces travaux.

Je remercie **Professeur Abdelghani BENYOUCEF**, de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

Merci tout particulièrement **Professeur Fatiha DJAFRI** et **Professeur Ayada DJAFRI** professeurs de l'université de Ahmed Ben Bella d'Oran 1, qui ont accepté de juger ce travail.

J'exprime ici toute ma reconnaissance envers Monsieur **Miloud SLIMANI Professeur** à l'Université de Tahar Moulay de Saïda, pour avoir accepté de participer au jury de cette thèse.

Je ne peux terminer sans remercier spécialement mes très chers collègues **Ould moumna Aoumria et Kiari Fatima Zohra** pour l'ambiance cordiale et l'aide qu'elles m'ont apportée à tout moment. Je leur souhaite une bonne continuation et une vie pleine de succès.

J'adresse un très grand merci à mon mari qui a partagé tous les moments de joie et également les moments plus difficiles, pour son soutien indéfectible et ses encouragements.

Je tiens donc à remercier tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, m'ont aidé pendant mon travail de thèse. Certaines par leurs conseils et leurs connaissances scientifiques, d'autres par leur soutien et leurs présences dans les moments les plus pénibles.



Dédicaces

A mes parents et mes beaux-parents

A mon mari et mes enfants : Abderrahmane et Anes

A ma famille et ma belle-famille

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ma formation.

A la mémoire de **Cherifa Bouziane**

Je dédie ce travail.



Sommaire	
Introduction générale	1
Chapitre I. La pollution par les métaux lourds	
1. La pollution par les métaux lourds.	4
1.1 Définition des métaux lourds	4
1.2. Origine des métaux lourds	5
1.2.1 Origines naturelles	5
1.2.2 Origines anthropiques	6
1.3. Mobilité et biodisponibilité d'un élément	7
1.4. Les effets des métaux lourds	8
1.4.1. Effets sur la santé humaine	8
1.4.2. Effet sur l'environnement	10
1.4.3. Pollution par les métaux lourds : le cas du Nickel	10
1.4.3.1. Toxicité humaine	11
1.4.3.2. Le Nickel et les plantes	12
1.4.4 Pollution par les métaux lourds : le cas du Cadmium	12
1.4.4.1. Toxicité humaine	13
1.4.4.2. Le cadmium et les plantes	14
1.5. Normes de pollution métallique et réglementation	15
1.5.1. Internationales :	15
1.5.2. Les réglementations environnementales Algériennes	18
Chapitre II : Techniques de dépollution	
1. Techniques de dépollution des sols	21
1.1. Les différentes techniques de dépollution des sols	21
1.1.1. Les techniques physicochimiques	21
1.1.2. Méthodes biologiques	24
1.2. La bioremédiation	24
1.2.1. L'atténuation naturelle,	25
1.2.2. La biostimulation	25
1.2.3. La bioaugmentation,	26
2. Les différentes techniques de dépollution des eaux	26
2.1 Précipitation	26

2.2. La coagulation	27
2.3 .Échange d'ions	27
2.4. Le transfert liquide-solide : sorption	28
2.5- L'électrolyse	28
2.6- Les membranes	28
2.7. La Phytoremédiation des eaux	29
2.8. Les filtres végétaux (marais artificiels)	30
2.8.1. Type des marais artificiels	30
Chapitre III. La phytoremédiation	
1. La phytoremédiation	33
1.1. Définition de la phytoremédiation	33
1.2. Techniques de phytoremédiation	33
1.2. Phytostabilisation	34
1.3 La phytodécontamination	34
1.3.1. Rhizofiltration	34
1.3.2. Phytoextraction	34
1.3.3. Phytostimulation(ou Rhizo-dégradation)	34
1.3.4. Phytovolatilisation	35
1.3.5. Phytodégradation	35
2. Phytoextraction des sols contaminés par les métaux lourds	36
2.1. Phytoextraction induite	37
2.2. Phytoextraction continue	39
2.3. Les métaux lourds et les plantes	40
3. Importance de la phytoremédiation et phytoextraction	41
3.1- Phytoremédiation	41
3.2- La phytoextraction	41
4. L'hyperaccumulation	42
4.1. Choix des plantes	44
5. Avantages et limites de la technique de phytoremédiation	45
5.1- Les avantages	45
5.2- Les limites	46
Chapitre IV. Matériels et méthodes	
1. Matériels	47

1.1. Présentation des plantes étudiées	47
1.1.1. Le Maïs	47
1.1.2. <i>Arundo donax</i> L.	48
1.1.3. Tournesol	50
1.2. Le sol	51
1.3. Les solutions d'arrosage	52
1.3.1. Les solutions nutritives	52
1.3.1.1. Solution de N.P.K (15 :15 :15)	52
1.3.1.2. Solution de Hoagland	53
1.3.2. La solution de l'EDTA	53
1.3.3. Les solutions polluantes	54
1.3.3.1. Le Nickel Ni	54
1.3.3.2. Le cadmium	54
1.4. Techniques de culture de en laboratoire	54
1.4.1. Culture hydroponique	54
1.4.2. Cultures en pots	56
1.5. Plan des expériences	59
1.5.1. Expérience 01 Évaluation du potentiel de la phytoépuration de <i>Zea mays</i> L des eaux contaminées par le Nickel : culture Hydroponique	59
1.5.2. Expérience 02 Évaluation du potentiel de la phytoremédiation de <i>Zea Mays</i> L. d'un sol contaminé par le Nickel	60
1.5.3. Expérience 03 Évaluation du potentiel de la phytoremédiation d' <i>Arundo donax</i> L. d'un sol contaminé par le Nickel	61
1.5.4. Expérience 04 : Impact des métaux lourds sur les chlorophylles et la croissance des plantes	61
2. Méthodes d'analyse	63
2.1. Etude des paramètres écophysologiques	63
2.1.1 Paramètres morphologiques	63
2.1.1.1. Paramètres physiologiques : Les chlorophylles	63
2.1.1.2. Etude anatomique	65

2.2. Analyses des échantillons de sols et de plantes	66
2.2.1. Analyses du sol	66
2.2.1.1 .Caractéristiques physico chimiques	66
2.2.1.2. Minéralisation, extraction et dosage des métaux lourds	67
2.2.2. Extraction et analyses spécifiques des métaux lourds dans les plantes	67
2.3. Formules pour le calcul des facteurs d'accumulation et translocation	68
2.4. Histométrie	69
✓ au niveau de la tige	
✓ au niveau de la racine	
3. Analyses statistiques	70
Chapitre V. Résultats et discussion	
1. Résultats	71
1.1. Propriétés physico-chimiques du sol	
1.2.Évaluation du potentiel de <i>Zea mays</i> L. lors de la phytoépuration assistée par EDTA des eaux contaminées par le Nickel : culture Hydroponique	71
1.2.1. Effet du nickel sur les paramètres morphologiques du <i>Zea mays</i> L.	72
1.2.2. Teneurs en Nickel et facteurs de bioaccumulation	75
1.2.2.1. Teneur en Ni dans la partie aérienne et les racines de <i>Zea mays</i> L.	75
1.2.2.2. Facteurs de bioaccumulation, bioconcentration et translocation	76
1.3. Evaluation du potentiel de la phytoremédiation de <i>Zea Mays</i> L. d'un sol contaminé par le Nickel	79
1.3.1. Effet de Nickel et EDTA sur la biomasse fraîche et sèche de <i>Zea mays</i> L.	79
1.3.2. Teneurs en Nickel et facteurs d'accumulation	80
1.3.2.1. Évaluation de l'absorption et de l'accumulation de Ni chez le <i>Zea mays</i> L. cultivée en sol amendé par solution nutritive de Hoagland	80
1.3.2.2. Facteurs de bioaccumulation, bioconcentration et translocation	81
1.4. Évaluation du potentiel de la phytoremédiation d' <i>Arundo donax</i> L. d'un sol contaminé par le Nickel	84
1.4.1. Effet du nickel sur les paramètres de la croissance et de la biomasse de l' <i>Arundo donax</i> L.	84
1.4.2. Teneurs en Nickel et facteurs d'accumulation	89
1.4.2.1. Evaluation de l'absorption et de l'accumulation de Ni chez <i>Arundo</i>	89

<i>donax</i> L. cultivée en sol amendé par l'EDTA et la solution nutritive de NPK	
1.4.2.2. Facteurs de bioaccumulation, bioconcentration et translocation	92
1.5. Impact des métaux lourds Nickel et cadmium sur les chlorophylles et la croissance des plantes <i>Helianthus annuus</i> L., <i>Zea Mays</i> L. et <i>Arundo donax</i> L.	95
1.5.1. Effet du Nickel et du cadmium sur la croissance et les chlorophylles de <i>Helianthus annuus</i> L.	95
1.5.1.1. Effet du Nickel et cadmium sur la biomasse de <i>Helianthus annuus</i> L.	95
1.5.1.2. Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de <i>Helianthus annuus</i> L.	97
1.5.2. Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de <i>Zea mays</i> L.	99
1.5. 3. Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de <i>Arundo donax</i> L.	100
1.6. Effet du nickel sur la structure histologique des tiges et des racines d' <i>Arundo donax</i> L.	101
1.6.1. Etude histologique de la tige	101
1.6.2. Etude anatomique de la racine	107
2. Discussion	113
2.1. Évaluation du potentiel de <i>Zea mays</i> L. lors de la phytoremédiation assistée par EDTA des eaux et du sol contaminés par le Nickel : culture Hydroponique et culture en pot	113
2.2. Évaluation du potentiel de la phytoremédiation de <i>Arundo donax</i> L. d'un sol contaminé par le Nickel	117
2.3. Effet de Nickel et de cadmium sur les chlorophylles et les croissances des plantes <i>Helianthus annuus</i> L., <i>Zea Mays</i> L. et <i>Arundo donax</i> L.	121
2.4. Impact du nickel sur la structure anatomique des tiges et des racines d' <i>Arundo Donax</i> L.	123
Conclusion générales et perspectives	
Références Bibliographiques	
Annexes	

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure I.1.	Origine des métaux lourds dans le sol	5
Figure I.2.	Mobilité des métaux dans le sol	8
Figure I.3.	Différentes sources de cadmium dans les plantes supérieures et la réponse subséquente de la plante.	15
Figure II.4.	Techniques de dépollution des sites par lieu de traitement ainsi que les détails des différents procédés	22
Figure II.5.	Vue schématique d'une clôture électrocinétique enfermant un plumet de contaminants	23
Figure II.6a	Les marais artificiels à surface d'eau libre (FWS) (Free water surface wetland)	31
Figure II.6b	Les marais artificiels à écoulement sous-surface (Sub-surface flow (SSF) wetland)	31
Figure II.7	Les marais artificiels à écoulement vertical (Vertical flow constructed wetland)	32
Figure III.8 :	Représentation schématique des différentes stratégies de phytoremédiation (modifiée)	33
Figure III.9.	Représentation schématique de phytoextraction des métaux à partir du sol	37
Figure III.10.	Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs.	38
Figure III.11.	Schéma représentant une phytoextraction continue	39
Figure III.12.	Transfert des métaux lourds aux plantes	41
Figure IV.13.	Le maïs (<i>Zea mays L.</i>)	47
Figure IV.14	<i>Arundo donax L.</i> en milieu naturel.	48
Figure IV.15	Tournesol, <i>Helianthus annuus L.</i>	50
Figure IV.16	Image satellites Google Earth du site de prélèvement du sol	52
Figure IV.17	Système de culture hydroponique	55
Figure IV.18	Germination des grains de tournesol et de Maïs dans des alvéoles et repiquage des plantules dans les pots	57

Figure IV.19	Les étapes de bouturage des fragments des tiges d' <i>Arundo donax</i> L. et repiquage des plantules dans les pots	58
Figure IV.20	Le schéma du dispositif expérimental 01	59
Figure IV.21	Le schéma du dispositif expérimental 02	60
Figure IV.22	Le schéma du dispositif expérimental 03	61
Figure IV.23	Le schéma du dispositif expérimental 04	62
Figure IV.24	Extraction et dosage des pigments	65
Figure V.25	Effets des différents traitements de Ni et EDTA sur la longueur moyenne des racines de <i>Zea mays</i> L. au cours de son développement hors sol en présence et en absence du chélateur EDTA à deux niveau C1 et C2.	72
Figure V.26 :	Effets des différents traitements de Ni et EDTA sur la Hauteur moyenne des tiges de <i>Zea mays</i> L. au cours de son développement hors sol en présence et en absence du chélateur EDTA à deux niveau C1 et C2.	73
Figure V.27	Effets des différents traitement de Ni et EDTA sur les biomasses fraîches et sèches de <i>Zea mays</i> L. au cours de son développement hors sol en absence et en présence de l' EDTA à deux niveau C1 et C2.	74
Figure V.28	Teneur en Ni accumulé en mg/kg de MS dans les différents parties de <i>Zea mays</i> L. au cours de son développement hors sol en présence et en absence du chélateur EDTA à deux niveau C1 et C2.	75
Figure V.29	Les valeurs du facteur de bioconcentration de <i>Zea mays</i> L. sous conditions hydroponiques.	76
Figure V.30	Les valeurs du facteur de bioaccumulation de <i>Zea mays</i> L. sous conditions hydroponiques.	77

Figure V.31	Les valeurs du facteur de translocation de <i>Zea mays</i> L. sous conditions hydroponiques.	78
Figure V.32	Effets des différents traitements de Ni et EDTA sur les biomasses fraîches et sèches de <i>Zea mays</i> L. cultivée en sol amendé par solution nutritive de Hoagland.	79
Figure V.33	Effets des différents traitements de Ni et EDTA sur l'accumulation de Nickel	80
Figure V.34	Les valeurs du facteur de bioconcentration de <i>Zea mays</i> L cultivée en sol amendé par solution nutritive de Hoagland .	81
Figure V.35	Les valeurs du facteur de bioaccumulation de <i>Zea mays</i> L. cultivé en sol amendé par solution nutritive de Hoagland	82
Figure V.36	Les valeurs du facteur de translocation de <i>Zea mays</i> L. cultivé en sol amendé par solution nutritive de Hoagland :a) facteur de translocation des feuilles et b) facteur de translocation des tiges.	83
Figure V.37	Effet de différents traitements Ni, Ni + NPK, Ni + EDTA sur le nombre de feuilles (a) et la hauteur de la tige (b).	85- 86
Figure V.38:	Effet des différents traitements Ni, Ni+NPK, Ni+EDTA sur le diamètre de la tige (a) et la longueur des racines (b) des plantes	87
Figure V.39:	Les effets des traitements Ni, Ni+NPK, Ni+EDTA sur la biomasse sèche des feuilles, des racines et des tiges.	88
Figure V.40.	Concentrations en Nickel (mg / kg MS.) dans les différentes parties de l' <i>Arundo donax</i> L. cultivé en sol amendé par solution Ni (A) , Ni+NPK (B) and Ni+EDTA (C) .	90
Figure V.41.	Les valeurs du facteur de translocation des feuilles et de tige de l' <i>Arundo donax</i> L. cultivée en sol traité par Ni (A) Ni+NPK (B) et Ni+EDTA (C).	92

Figure V.42.	Facteur de Bioconcentration (A) et de bioaccumulation (B) des plantes d' <i>Arundo donax</i> L. cultivée en sol traité par Ni , Ni+NPK , et Ni+EDTA.	93
Figure V.43.	Effet du Nickel et cadmium sur la biomasse sèche et fraîche des racines (a) et de la partie aérienne (b) de plante : <i>Helianthus annuus</i> L.	95- 96
Figure V.44	Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de <i>Helianthus annuus</i> L.	97
Figure V.45.	Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de <i>Zea mays</i> L.	99
FigureV.46.	Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de <i>Arundo donax</i> L.	100
Figure V.47	Coupes transversales au niveau de la tige (témoin)	104
Figure V.48.	Coupes transversales au niveau de la tige des plantes cultivées à 100 mg/l (traitements A, B et C)	105
Figure V.49.	Coupes transversales au niveau de la racine (témoin)	109
Figure V.50.	Coupes transversales au niveau de la racine (traitements A, B et C : à 100 mg/l)	110

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau I.1	Types de métaux lourds et leurs effets sur la santé humaine	9
Tableau I.2	Valeurs limites de pollution des sols au-delà desquelles une décontamination doit être réalisée	16
Tableau I.3	Valeurs limites de concentrations dans les sols	17
Tableau I.4	Teneurs critiques et normaux en métaux lourds (mg/kg/MS) pour les plantes	17
Tableau I.5	Limites réglementaires de concentrations dans divers types d'eau pour différents ions métalliques et métalloïdes	18
Tableau I.6	Valeurs limites des paramètres de rejets des effluents Liquides Industriels ²⁰	20
Tableau II.7	Synthèse des principaux procédés d'élimination des métaux en traitement d'eau potable et d'eaux usées industrielles et urbaines	26
Tableau III.8	Nombre de taxons	43
Tableau IV.9	Composition de la solution nutritive	53
Tableau V.10	Propriétés physico-chimiques du sol	71
Tableau V.11	Les mesures histologiques de la tige d' <i>Arundo donax</i> L. réalisé par le logiciel Mesurim pro 3.3.	106
Tableau V.12	Résultats des corrélations entre les différents tissus de la tige	106
Tableau V.13	Les mesures histologiques de la racine d' <i>Arundo donax</i> L. réalisées par le logiciel Mesurim pro 3.3.	111
Tableau V.14	Résultats des corrélations entre les différents tissus de la racine	111

Liste des abréviations

%:	Pourcentage
BCF	Facteur de bioconcentration
BF	Facteur de bioaccumulation
Cd	Cadmium
Chl a	Chlorophylle a
Chl b	Chlorophylle b
C	Caroténoïdes
C+X	Xanthophylle
EDTA	L'acide éthylène diamine tétra acétique
ETM	Elément trace métallique
FWS	Free water surface wetland (Les marais artificiels à surface de l'eau libre)
g	Gramme
Kg	Kilogramme
MES	Matière en suspension
METOX	Métaux toxiques
mg/kg	Milligramme par kilogramme
MS	Matière sèche
mS/cm	Milli Siemens par centimètre.
Ni	Nickel
Ppm	Partie par million
SAA	Spectrométrie d'absorption atomique
SSF	Subsurface flow wetland (Les marais artificiels à écoulement sous-surface)
STEP	Station d'épuration
TF	Facteur de translocation.



Introduction générale



Introduction générale

La contamination de l'environnement est un facteur critique qui peut affecter la productivité des plantes, et mettre en danger la santé humaine et animale.

Une pollution environnementale mondiale par des métaux lourds et sa concentration accrue dans le sol devient un problème écologique perturbe les communautés humaines à tous les niveaux (Ali-Zade et Al, 2010; Kabata-Pendias, 2011).

Les métaux lourds sont des substances naturelles trouvées, habituellement à de faibles niveaux, dans le sol. Cependant, les métaux émis par des procédés industriels peuvent augmenter les concentrations de métaux à des niveaux non naturels (Hill, 2004).

Les métaux lourds les plus communs trouvés sur les sites contaminés sont le plomb (Pb), le chrome (Cr), l'arsenic (As), le zinc (Zn), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le mercure (Hg) et le Ni. Leur présence dans le sol peut présenter des risques pour l'homme et l'écosystème et inhiber la biodégradation.

Le Nickel et le Cadmium sont considérés comme des polluants toxiques qui sont libéré du traitement de surfaces des métaux, de la combustion du charbon et du pétrole. De plus, certaines boues d'épuration et les engrais peuvent être des sources importantes de Ni et de Cd dans les sols agricoles. Cela peut provoquer diverses maladies, principalement pour ceux qui vivent près des raffineries (Wuana et al, 2011, KabataPendias, 2011).

Il existe principalement des technologies de remédiation mécanique ou physico-chimique, Stabilisation / immobilisation et désorption thermique, utilisés pour l'élimination des contaminants. Ces techniques sont généralement coûteuses et perturbent les mécanismes biologiques du sol.

Par conséquent, la technologie de phytoremédiation a reçu une considération croissante (Belluck et al, 2006, Marques et al, 2009b).

La phytoremédiation est l'utilisation de plantes pour éliminer ou dégrader les contaminants organiques et inorganiques du sol et de l'eau (Suthersan, 2001).

Les diverses approches de la phytoremédiation comprennent la phytodégradation, phytoextraction, phytostabilisation, phytovolatilisation et la rhizofiltration.

Pour les polluants inorganiques, les mécanismes peuvent être catégorisés en phytostabilisation et phytoextraction (Suthersan, 1999; Owen et al, 2004 ; Marques et al, 2009a).

Cependant, l'un des principaux objectifs de la recherche sur la phytoremédiation est la sélection des espèces végétales les plus aptes à accumuler des polluants.

Ces dernières années, une attention croissante est accordée à la recherche de nouvelles plantes à une grande capacité de stockage des métaux lourds (Ali-Zade et al, 2010). En particulier, les plantes candidates à l'élimination des métaux lourds doivent être résistantes et capables de transporter ces métaux toxiques (Macek et al, 2004).

Certaines plantes, environ 400 espèces, appelées hyperaccumulateurs, ont la capacité de prendre de grandes quantités de métaux. Les espèces hyper-accumulatrices produisent une biomasse très faible tandis que les plantes génèrent une biomasse élevée ne peuvent absorber que des quantités modérées de métaux (Kabata-Pendias, 2011).

La phytoremédiation est une technologie en développement qui vise à extraire ou inactiver les métaux, les métalloïdes et les radionucléides dans les sols contaminés.

Il existe deux stratégies de base pour la phytoremédiation : la première utilise des plantes hyperaccumulatrices, et la seconde est la phytoextraction chimiquement assistée par chélateurs (Wu et al, 2007).

L'application d'agents chélateurs peut être associée à la phytoremédiation afin d'accroître l'absorption de métaux lourds et de réduire le temps nécessaire à la dépollution des sols.

Cependant, le choix du chélateur pourrait déterminer le succès de la phytoextraction assistée (Cao et al, 2007).

Plus récemment, l'EDTA a été utilisé comme chélateur approprié pour l'induction de l'absorption et de la translocation des métaux lourds, qui dépend largement des plantes et des métaux lourds utilisés à cette étude.

Des expériences antérieures ont suggéré que l'application d'agents chélatants a montré des effets positifs dans l'augmentation de la solubilité des métaux lourds dans le sol et donc dans l'amélioration de la phytoextraction (Evangelou et al, 2007; Meers et al, 2009; Zaier et al, 2010; Meighan et al, 2011).

En Algérie, peu d'études ont porté sur la phytoremédiation du sol contaminé par le Ni.

Selon Lakhdari et Benabdeli (2012), les valeurs les plus élevées de Ni ont été trouvées dans des échantillons de *Casuarina equisetifolia* recueillis à partir de la ville de Mascara et ils ont révélé que les sources de Ni sont les émissions de véhicules automobiles fonctionnant au pétrole et au carburant diesel.

Ce travail a été réalisé afin d'évaluer le potentiel de phytoremédiation de Ni et d'étudier la répartition du métal dans différentes parties des plantes cultivées en hydroponique et dans un sol, de la wilaya Mascara, artificiellement contaminé par le Ni.

Cette étude a également examiné l'absorption et la capacité de l'accumulation de Ni et de la translocation dans les parties de la plante à diverses applications : solution nutritive de Hoagland et le NPK comme engrais et EDTA comme agent chélateur.

Pour répondre à ces objectifs, des expériences ont été menées au laboratoire utilisant trois plantes possédant des biomasses élevées : *Helianthus annuus* L. (tounesol), *Zea mays* L. (maïs), *Arundo donax* L. (roseaux).

Nous proposons dans une première étape une synthèse bibliographique qui retrace les connaissances actuelles sur les métaux lourds et leurs effets sur les plantes et l'homme, sur les mécanismes principaux de la technique de phytoremédiation.

Une présentation des matériels et méthodes et les techniques d'analyse utilisées pour répondre à nos objectifs est indiquées dans le quatrième chapitre.

Un dernier chapitre présente les résultats obtenus :

- Évaluation du potentiel de Zeamays L. lors de la phytoépuration assistée par EDTA des eaux contaminées par le Nickel : culture Hydroponique
- Evaluation du potentiel de la phytoremédiation de ZeaMays L. d'un sol contaminé par le Nickel : culture en pots
- Évaluation du potentiel de la phytoremédiation d'Arundo donax L. d'un sol contaminé par le Nickel
- Impact des métaux lourds sur les chlorophylles et les croissances des plantes *Helianthus annuus* L., *Zeamays* L., *Arundo donax* L..
- Etude histométrique de la tige et de la racine d'Arundo donax L.

Nous concluons ce travail par une discussion générale et une conclusion.



Chapitre I : La pollution par les métaux lourds



1- La pollution par les métaux lourds

1. 1- Définition des métaux lourds

On désigne généralement par "métaux lourds" les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes, caractérisés par une masse volumique dépasse 5 g/cm³.

Sous cette appellation figurent des éléments qui, pour certains, sont effectivement des métaux tels que Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Al... mais aussi des métalloïdes tels que As et Se.

Ceux-ci sont présents le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces.

Les plus toxiques d'entre eux sont le cadmium, l'arsenic, le plomb et le mercure. Ces éléments sont présents naturellement dans la croûte terrestre et dans tout organisme vivant, à des concentrations variables suivant les milieux et les organismes. Selon les textes législatifs, la pollution par les métaux toxiques (METOX) regroupe sept métaux et un métalloïde (chrome, zinc, cuivre, nickel, plomb, arsenic, cadmium et mercure) (Koller, 2004).

Les métaux lourds représentent une source de pollution particulière, car une partie d'entre eux sont :

- (i) des oligo-éléments métalliques essentiels aux processus biologiques (fer, cuivre, zinc, manganèse, magnésium, cobalt, molybdène, et probablement le nickel...), mais qui deviennent toxiques pour les êtres vivants s'ils sont présents en excès dans leurs cellules.
- (ii) des métaux non essentiels toxiques à de très faibles concentrations cellulaires (cadmium, plomb, mercure, thallium...).

Tous ces éléments sont appelés "éléments traces", constituant moins de 0,1% de la croûte terrestre, sauf en cas de contamination métallique. La dénomination des éléments en traces métalliques (ETM) remplaçant le terme « métaux lourds », est parfois un peu flou car il n'y a pas de définition officielle. Usuellement, les ETM sont des éléments minéraux réputés toxiques, incluant des métaux et des métalloïdes, naturellement présents dans les sols et les roches en faibles concentrations (fond géochimique). (Borovik, 1990 ;Heller, 1990 ;Kabata-Pendias et Pendias, 2011) .

Dans la suite de ce travail nous conservons le terme de métaux lourds dans le sens de l'impact toxique sur l'environnement.

1.2- Origine des métaux lourds

Les pollutions de l'eau, de l'air et du sol peuvent être dues à des sources naturelles ou anthropiques. (Figure I. 1).

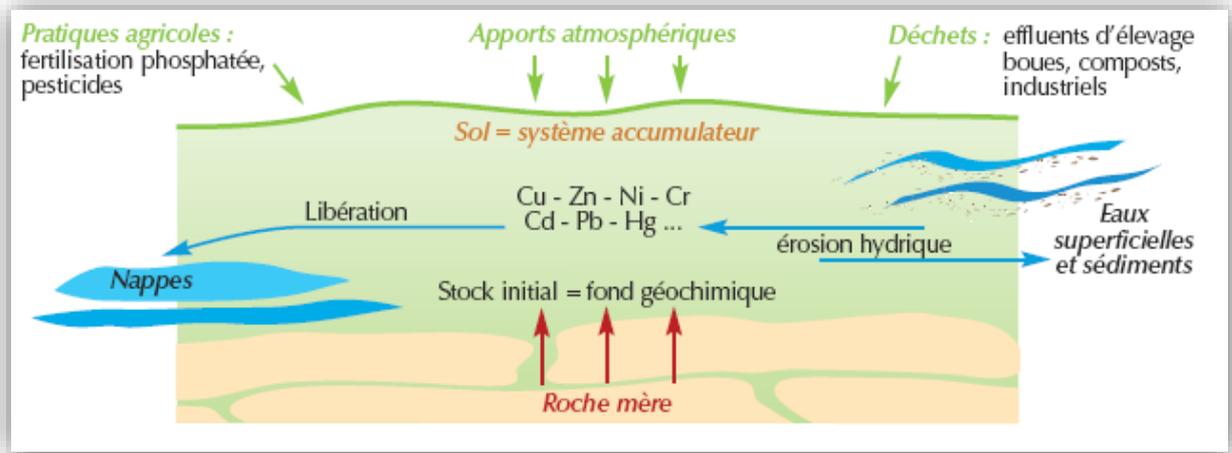


Figure I.1. Origine des métaux lourds dans le sol (D'après Robert et Juste, 1998)

1.2.1- Origines naturelles

La principale source naturelle de métaux lourds dans l'environnement est la croûte terrestre qui est formée de 95 % de roches volcaniques et de 5 % de roches sédimentaires. La concentration naturelle de ces métaux lourds dans les sols varie selon la nature de la roche, sa localisation et son âge.

Divers phénomènes naturels sont aussi à l'origine de pollution par exemple, une irruption volcanique, un épanchement sous-marin d'hydrocarbures, le contact avec des filons géologiques (métaux, arsenic), une source thermo minérale. (Callender, 2014 ; Kabata-Pendias et Pendias, 2011).

Les sols dérivés de l'érosion des roches volcaniques acides (rhyolites, granites), contiennent généralement moins d'éléments essentiels (Cu, Co, Zn....) que ceux issus de roches sédimentaires (argiles, schistes). La redistribution des éléments a lieu grâce aux phénomènes géophysiques d'érosion, de lessivage, de volcanisme, ou aux activités chimiques et biologiques de solubilisation, précipitation ou complexation. (Nriagu et Pacyna, 1988).

1.2.2- Origines anthropiques

Les principaux types de pollutions anthropiques responsables de l'augmentation des flux de métaux, sont la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels), la pollution liée aux activités agricoles et la pollution industrielle.

L'usage des combustibles fossiles et, en date plus récente, celui de l'énergie nucléaire constitue une importante cause de production d'agent polluants (Ramade, 2000). Particulièrement l'usage du pétrole est une importante source de graves pollutions des eaux océaniques et du littorales depuis son extraction jusqu' aux raffineries, et à l'utilisation dans les divers carburants.

Parmi les principales nuisances associées à la production et à l'utilisation de l'énergie est la pollution thermique. Lorsque l'Homme brûle une masse déterminée de combustibles fossiles ou de matière fissile, 60% de l'énergie potentielle est perdue dans l'environnement sous forme de basses calories inutilisables. Le refroidissement d'une centrale de 1 000 MW provoque un réchauffement des eaux fluviales ou littorales catastrophique pour les êtres vivants limniques et marins. Il en résulte, entre autre graves conséquences écologiques, une importante perturbation de leur cycle biogéochimique à une échelle globale. (wang , 2006 ;Wong et hang , 2006).

L'agriculture est devenue une cause importante de pollution des sols et des eaux par suite l'usage systématique des engrais chimiques et des pesticides. Ces derniers sont destinés à améliorer les propriétés physico-chimiques du sol sont souvent plus riches en métaux lourds que le sol lui-même. Les industries, en particulier chimiques, métallurgiques, et même électroniques, constituent une source essentielle de la pollution de l'air et des eaux. (Ramade, 2000).

Les industries rejettent des eaux usées de compositions très variables en fonction de la branche industrielle dans laquelle elles s'inscrivent (Pepper, 2006) tels que la papeterie (Couillard, 1979), la chimie, le pétrole et la métallurgie. Ces derniers utilisent un important volume d'eau dans leurs processus de fabrication. Les rejets des eaux usées «effluents» contiennent des concentrations très élevées des métaux lourds (mercure, plomb, cadmium...) dont la toxicité est encore mal connue pour certains (Järup, 2003 ; Callender,2014 ;Kabata-Pendias et Pendias, 2011).

1.3- Mobilité et biodisponibilité d'un élément

La mobilité d'un élément susceptible d'intervenir dans le fonctionnement ou la qualité de la plante est l'aptitude de cet élément à passer dans les compartiments du sol où il est de moins en moins énergiquement retenu, le compartiment ultime étant représenté par la phase liquide ou, dans certains cas, l'atmosphère du sol.

La biodisponibilité d'un élément est son aptitude à être transféré d'un compartiment quelconque du sol vers un organisme vivant dans ce dernier (racine d'une plante, micro-organisme, mésofaune...). (Juste et al, 1988)

Les concepts de mobilité et de biodisponibilité qui s'appliquent aux éléments majeurs et aux méso-éléments sont également valables pour les éléments en traces, mais, pour ces derniers, la prédiction de la biodisponibilité pose un certain nombre de problèmes spécifiques liés :

- ✓ au grand nombre d'espèces chimiques regroupées sous le vocable «éléments en traces», indispensables ou non, mais susceptibles d'être absorbés qui conduit à une large gamme de comportements dans les sols ou à l'interface sol-végétal ;
- ✓ à la multiplicité des phases de rétention (figure I.2) susceptible de fixer un même élément, l'activité dans la solution du sol étant toujours très faible (10^{-4} à 10^{-8} M);
- ✓ à l'importance des interactions (entre éléments en traces entre eux ou entre ces derniers et les éléments majeurs) qui interviennent au cours des transferts ;
- ✓ aux faibles quantités d'éléments prélevées par une culture. (Juste et al , 1988)

La connaissance des formes physico-chimiques des éléments est nécessaire pour comprendre leur devenir dans l'environnement. Les différentes formes des éléments résultent de liaisons spécifiques (liaisons covalentes ou de coordination) ou aspécifiques (échanges d'ions), l'affinité de liaison dépendant de la nature chimique du contaminant, de la surface d'adsorption, et des conditions physico-chimiques du milieu. Les métaux sont répartis dans différentes fractions du sol selon leur mobilité, le compartiment ultime étant représenté par la solution de sol (Juste et al. 1995) (figure I.2).

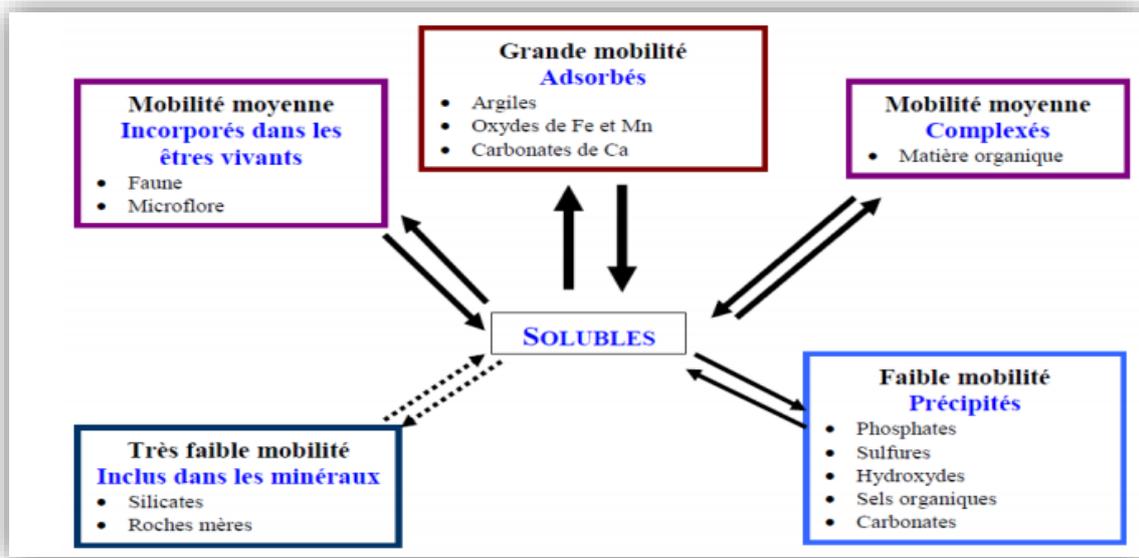


Figure I.2. Mobilité des métaux dans le sol (Juste et al. 1995)

1.4- Les effets des métaux lourds

1.4.1- Effets sur la santé humaine

La toxicité des métaux et de leurs dérivés est connue depuis très longtemps. Si l'intoxication aiguë est devenue rare, les effets à long terme de petites doses répétées sont d'une actualité parfois brûlante. (Poëy et Philibert, 2000).

Tous les métaux sont toxiques à des concentrations plus élevées. Des niveaux excessifs peuvent être nocifs pour l'organisme, les métaux lourds tels que le mercure, le plutonium et le plomb sont des métaux toxiques qui n'ont pas connu un effet vital ou bénéfique sur les organismes, et leur accumulation au cours du temps dans le corps des animaux peut provoquer des graves maladies (Singh et al, 2011) . Les types de métaux lourds et de leur effet sur la santé humaine sont énumérés dans le tableau 1.

Une exposition prolongée au : mercure (Hg), plomb (Pb), chrome (Cr), cadmium (Cd), arsenic (As), cuivre (Cu), vanadium (V), nickel (Ni) et zinc (Zn) peut provoquer des effets néfastes sur la santé humaine à savoir :

- des inflammations chroniques et un risque plus élevé pour plusieurs maladies (cardiaques, pulmonaires , neurologiques et cancers),
- un retard de croissance et de développement,
- des perturbations des systèmes bio-régulateurs responsables de troubles fonctionnels ou psychosomatiques (syndrome fatigue chronique),
- des problèmes neuro-dégénératifs (Parkinson, Alzheimer)

- et finalement des lésions organiques et des maladies cancéreuses.

Sá et al (2016) ont prouvé la présence de métaux lourds, tels que Ni, Cr, Fe, tungstène (W), le titane (Ti), des particules de Cd, Cu, Mn, Zn et Mg dans des échantillons de tissus tumoraux et suggèrent un rôle possible des métaux lourds dans la voie oncogène du carcinome des cellules rénales. Ils ont trouvé une différence significative de concentration des métaux lourds entre les échantillons de tumeur et les tissus environnants et ils ont démontré qu'il y a une séquestration anormale de métaux lourds dans les tissus de la tumeur des reins (Sá et al 2016) (Doumont et al. 2006).

Tableau I.1. Types de métaux lourds et leurs effets sur la santé humaine (Sá et al 2016 ; Singh et al, 2011) . (Martin and Griswold, 2009)

Pollutants	Sources	Effet sur la santé humaine
-Arsenic	- Pesticides, Fongicides, les fonderies de métaux.	-Bronchite, dermatite, l'empoisonnement.
-Cadmium	Soudage, galvanoplastie, engrais pesticides, batteries Cd et Ni, l'usine de la fission nucléaire	dysfonction rénal, la maladie du poumon, des anomalies osseuses (ostéomalacie, l'ostéoporose), l'augmentation de la pression artérielle, des lésions rénales, la bronchite, troubles gastro-intestinaux, le cancer.
-Plomb	-Peinture, Pesticides, le tabagisme, l'émission de l'automobile, l'exploitation minière, la combustion du charbon	- Le retard mental chez les enfants, un retard de développement, fatale encéphalopathie infantile, la paralysie congénitale, capteur surdité neurale et, atteintes aiguës ou chroniques du système, épileptique, le foie, les reins, lésions gastro-intestinales nerveux
Manganèse	- Soudure, additif de carburant, la production de ferromanganèse	- L'inhalation ou le contact cause des dommages au système nerveux central
Mercuré	Pesticides, batteries, industrie du papier	-Tumeurs, gingivite, changements psychologiques, acrodynie : mains roses et des pieds, l'avortement spontané, dommages au système nerveux, protoplasme, empoisonnement
Zinc	Raffineries, la fabrication de laiton, placage métallique, plomberie	Fumées de zinc ont un effet corrosif sur la peau, dommages à la membrane nerveuse
Chrome	- Mines, sources minérales	Les dommages au système nerveux, la fatigue, l'irritabilité
Cuivre	Minerai, la production de pesticides, l'industrie chimique, de la tuyauterie métallique	- L'anémie, la fièvre, des lésions rénales, une irritation gastrique et intestinale

1.4.2- Effet sur l'environnement

Les métaux sont des constituants intégrés à la biosphère, et on les retrouve par conséquent naturellement dans les sols et les végétaux. Tous ces métaux lourds, lorsqu'ils sont en excès dans le milieu, peuvent être toxiques pour la plupart des organismes vivants : la faune et la flore aquatique, la microfaune et la microflore du sol, les végétaux et les animaux terrestres.

Dans l'environnement aquatique, les métaux lourds sont absorbés tant par la faune que par la flore. Cette absorption pourrait provoquer une augmentation de la concentration du métal dans l'organisme et il peut en résulter un phénomène d'accumulation biologique.

Les métaux lourds peuvent être absorbés sous la forme inorganique ou sous la forme organique. Pour certains éléments, comme l'arsenic As et le cuivre Cu la forme inorganique est la plus toxique. Pour d'autres, comme le mercure Hg, Sn et le plomb Pb, les formes organiques sont les plus toxiques. A des faibles concentrations, beaucoup de métaux lourds, dont Hg, Cd, Pb, As et Cu inhibent la photosynthèse et la croissance du phytoplancton. Les effets observés à des niveaux trophiques supérieurs se manifestent notamment par un retard du développement des embryons, des malformations et une moins bonne croissance des adultes chez les poissons, les mollusques et les crustacés. (Biney et al, 1994).

Les métaux sont des constituants intégrés à la biosphère, et on les retrouve par conséquent naturellement dans les sols et les plantes.

Les plantes réagissent de façon différente selon les variétés. Certaines sont peu ou pas tolérantes et meurent au contact des métaux lourds. D'autres ont des réactions de défense, et freinent l'absorption. D'autres enfin, sont tolérantes aux métaux, et même les accumulent et les concentrent. (Miquel, 2001)

Les principaux effets toxiques vis-à-vis les plantes sont généralement observés au niveau des racines, et ils peuvent être très divers : diminution de la biomasse, changement de la morphologie, diminution de l'élongation racinaire, diminution de la densité de poils absorbants, épaissement du méristème, brunissement ou apparition de pigments.

(Punz et Sieghardt, 1993 ;Mench, 1990).

1.4.3- Pollution par les métaux lourds : le cas du Nickel

Dans la croûte terrestre, le nickel Ni représente environ 20 mg / kg, alors que dans les roches ultramafiques Ni varie de 1400 à 2000 mg / kg, sa concentration diminue jusque dans la gamme de 5-20 mg / kg dans les granites. Les roches sédimentaire contiennent le nickel dans

la plage de 5 à 90 mg / kg, la gamme la plus élevée étant pour les sédiments argileux. (Kabata-Pendias et Pendias, 2011). Les sources anthropiques comme l'utilisation des combustibles fossiles et la production de métaux non-ferreux sont considérées comme les principales sources d'émission du nickel dans l'environnement.

Le nickel est largement utilisé pour la fabrication des aciers Inoxydables (62%), les alliages et superalliages (12%) les aciers et fontes alliées (11%) les traitements de surface (10 %). Les autres formes Nickel-Aluminium. (Chiffolleau, 2001)

1.4.3.1- Toxicité humaine

Le nickel et ses composés sont absorbés par les voies respiratoires et dans une moindre mesure par le tube digestif. Environ 20 à 35 % du nickel inhalé (sous forme de composés peu solubles) sont absorbés dans le sang à partir des voies respiratoires. Par voie orale, quarante fois plus de nickel sont absorbés par le tractus gastro-intestinal.

La biodisponibilité du nickel est diminuée lorsqu'il est administré dans du lait entier, du café, du thé ou du jus d'orange, lors de la présence de nourriture. L'absorption du nickel existe également par voie cutanée. La dermatite de contact, qui résulte d'une exposition cutanée au nickel, est l'effet le plus fréquent du nickel dans la population générale.

La toxicité aiguë se décompose en deux phases : immédiate et retardé. La symptomatologie immédiate se manifeste par des maux de tête, des vertiges, des nausées, des vomissements, de l'insomnie et de l'irritabilité. Elle est suivie d'une période asymptomatique avant le début de la phase retardée. Celle-ci est essentiellement pulmonaire avec des douleurs constrictives dans la poitrine, une toux sèche, une dyspnée, une cyanose, une tachycardie, des symptômes gastro-intestinaux occasionnels, une sudation, des perturbations visuelles et une débilité. La symptomatologie ressemble à une pneumonie virale.

Les études chez l'homme (et l'animal) indiquent que le système respiratoire est la cible principale de la toxicité chronique du nickel par inhalation. Une augmentation de l'incidence des décès par cancers bronchiques et des cavités nasales et la pathologie respiratoire (asthme ou bronchite) ont été trouvée chez des travailleurs exposés chroniquement à des concentrations supérieures à 0,04 mg de nickel/m³, sous forme de monoxyde ou de métal. (INRIS, 2006 ; Poëy et Philibert, 2000)

1.4.3.2 - Le Nickel et les plantes

Le nickel se rencontre dans la quasi-totalité des organismes vivants et sa présence est considérée comme normale dans les tissus végétaux, bien que son absence n'empêche pas la croissance des plantes. (Verlière et Heller, 1981)

Depuis une quarantaine d'années, plusieurs travaux tendent à prouver que le nickel à faible concentration est un élément essentiel au développement des végétaux supérieurs.

Dixon et al. (1975) sont les premiers à avoir montré que Ni est constituant essentiel de l'uréase. En effet, de l'urée s'accumule dans les feuilles à des niveaux toxiques en l'absence de nickel, et l'addition de Ni au milieu de culture permet d'éviter tout symptômes de déficience. Cela a été confirmé par la suite par de nombreux travaux qu'ils ont montré récemment que le nickel intervient notamment dans la structure de l'uréase, responsable de l'hydrolyse de l'urée au niveau des feuilles (Gerendás et al., 1999 ; Seregin et Kozhevnikova, 2006, Kieling-Rubio et al, 2012).

A forte concentration, le nickel devient toxique : soit plus de 10 mg.kg⁻¹ pour les plantes sensibles et plus de 50 mg.kg⁻¹ pour les plantes tolérantes (Gerendás et al., 1999). Cette phytotoxicité est à l'origine d'une chlorose, d'une diminution de la croissance et d'un désordre dans le métabolisme.

Par ailleurs, l'étude de Verlière et Heller (1981) suggère qu'une concentration en nickel de 0.1 ppm semble avoir un léger effet bénéfique sur la croissance des racines isolées de *leucocephala*. L.. Par contre un effet dépressif se manifeste dès que la concentration en nickel dépasse 1ppm, et la croissance devient pratiquement nulle avec une concentration de 10 ppm.

1.4.4- Pollution par les métaux lourds : le cas du Cadmium

Naturellement, le cadmium n'est pas très abondant dans la croûte terrestre. Dans les sols non pollués, le contenu en cadmium est généralement entre 0,1 et 2 ppm et la plupart du temps il est inférieur à 1 ppm. (Kabata-Pendias et Pendias, 2011).

Le cadmium est principalement associé au zinc dans les minerais de zinc et donc sous-produit de la métallurgie du zinc qui donne en moyenne 3 kg de cadmium par tonne de zinc. Il n'existe pas de minerai de cadmium en quantités exploitables. Le cadmium est également présent dans des minerais de plomb et de cuivre ainsi que dans des phosphates naturels (30 mg/kg pour les phosphates jordaniens, 400 mg/kg pour les phosphates tunisiens).

La consommation mondiale était de 16 780 t/an en 1994 (en France, 1 860 t/an en 1996), les principaux secteurs d'utilisation étant les batteries Cd-Ni (70 %), les pigments (13 %), la galvanoplastie (8 %), les stabilisants (7 %). Les activités métallurgiques, la combustion de produits pétroliers et de charbon et l'incinération d'ordures ménagères sont à l'origine de la contamination de l'atmosphère puis des sols et des eaux continentales, de même que la fabrication et l'épandage d'engrais phosphatés. (Chiffolleau, 2001).

Les produits chimiques utilisés en agriculture, tel que les fongicides, les insecticides, les herbicides peuvent contenir plusieurs métaux toxiques comme Cu, Cd, Zn et Pb et peuvent donc contribuer à la contamination des terres agricoles (He et al., 2005).

1.4.4.1- Toxicité humaine

Le cadmium est un métal non essentiel à la vie. Une fois absorbé, il se disperse dans l'organisme ; les concentrations les plus élevées sont principalement retrouvées dans les reins et les os et les poumons. (ATSDR, 2008). Le cadmium présente des risques chez le consommateur humain même à de faibles concentrations, il tend à s'accumuler dans le cortex rénal sur de très longues périodes (50 ans) où il entraîne une perte anormale de protéines par les urines (protéinurie) et provoque des dysfonctionnements urinaires chez les personnes âgées. (Chiffolleau, 2001).

L'étude de Garcia-Esquinas et al (2014) examine l'association entre la concentration urinaire de cadmium et la mortalité par cancer broncho-pulmonaire et du pancréas.

Le tabagisme étant une source très importante d'exposition au cadmium, les auteurs ont postulé que dans un sous-groupe des cancers favorisés par le tabagisme (lèvres, voies aérodigestives, estomac, colon et rectum, foie, pancréas, bronches, poumons, vessie, rein, col de l'utérus et leucémie myéloïde) montre par ailleurs un effet du cadmium dans la population totale.

En effet, les femmes ont des doses internes plus élevées de Cd par rapport aux hommes à des niveaux d'exposition similaires, éventuellement liés à leur absorption gastro généralement élevé (Garcia-Esquinas et al, 2014 ;Ninkov et al, 2016) .

Du point de vue intracellulaire, des dommages causés au système osseux peuvent être la cause d'une exposition chronique au cadmium. Ces effets seraient amplifiés par le dysfonctionnement des reins qui causerait une altération de la synthèse rénale de vitamine D ainsi qu'une perte de calcium et de phosphate. (ATSDR, 2008).

1.4.4.2-Le cadmium et les plantes

En ligne avec d'autres métaux toxiques comme As, Cr, Co, Cu, Ni, Sr et Zn, Cd est un métal toxique et phyto-toxique soit à toutes les concentrations ou au-dessus de certains niveaux. Le cadmium est un élément non essentiel pour les plantes, et les symptômes les plus évidents de sa toxicité sont la chlorose et le rabougrissement.

Alors que la chlorose est le résultat de la toxicité de Cd sur l'absorption, le transport et l'utilisation des éléments essentiels tels que Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, P, et K, ce qui conduit à la réduction de l'absorption de Mn et Fe et les changements de ratios Fe: Zn.

Le cadmium peut provoquer des dommages oxydatifs en augmentant la concentration cellulaire des espèces réactives de l'oxygène et en réduisant le pouvoir antioxydant de la cellule. (Figure I.3). (Kuriakose et Prasad, 2008) .

Un excès de Cd perturbe plusieurs métabolismes physiologiques au sein de la plante tels que la photosynthèse, l'absorption d'eau et de minéraux, l'évapotranspiration ou encore la respiration. Le cadmium est un puissant inhibiteur des systèmes de réparation de l'ADN, notamment des systèmes d'excision / réparation, des nucléotides ainsi que des mésappariements. La plupart des enzymes des systèmes de réparation de l'ADN contenant un atome de zinc essentiel à leur activité, il est supposé que le mécanisme en cause est le remplacement du zinc par le cadmium. (Liu et al, 2008).

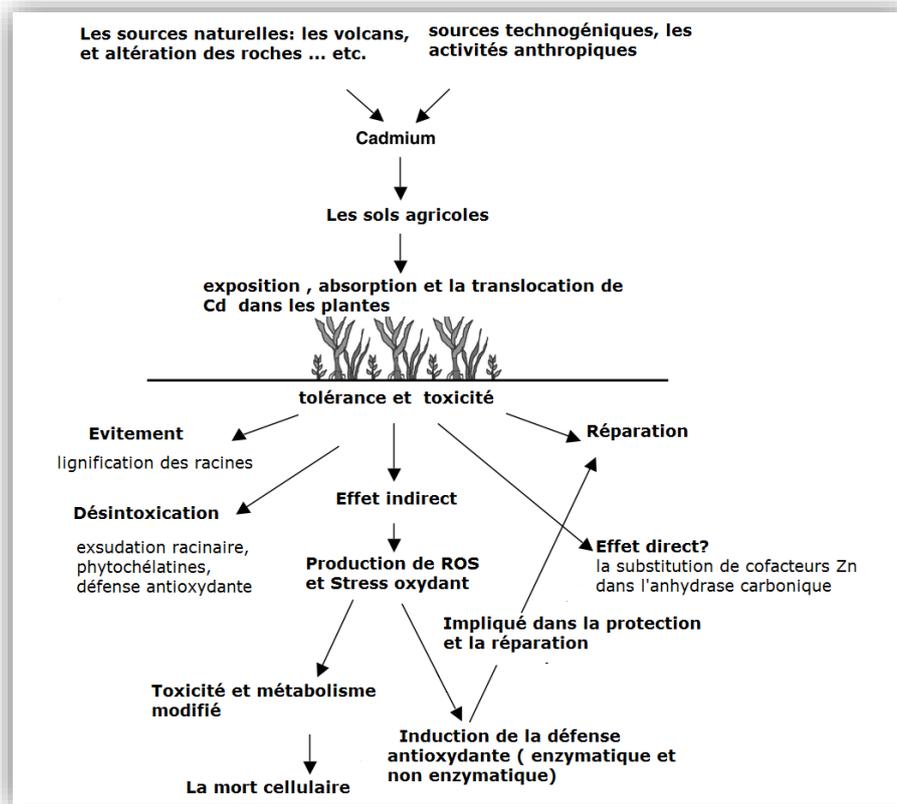


Figure I.3. Différentes sources de cadmium dans les plantes supérieures et la réponse subséquente de la plante. (Kuriakose et Prasad, 2008)

1.5- Normes de pollution métallique et réglementation

Depuis plusieurs décennies, des mesures de protection de l'environnement se généralisent au niveau international aussi bien pour les collectivités ou les entreprises que pour les particuliers l'édition de normes de rejets industriels et urbains de plus en plus contraignantes. (Chiffolleau. 2001)

Les ions métalliques et les métalloïdes sont rencontrés dans les eaux potables, les eaux usées domestiques et industrielles ainsi que dans les eaux de ruissellement. Un grand nombre d'éléments est relargué dans le milieu aquatique du fait de la lixiviation des sols qui contiennent naturellement des métaux et métalloïdes sous diverses espèces. (Andrès et al, 2007).

1.5.1- Internationales :

Des normes fixant les teneurs limites en métaux lourds dans les sols ont été définies dans divers pays (USA, Pays Bas, Suisse, Canada, etc.). En France, cependant, les seuls textes réglementaires relatifs à la teneur des métaux lourds dans les sols sont le décret n°97-113 du 8

décembre 1997 accompagné de l'arrêté du 8 janvier 1998 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues issues du traitement des eaux usées sur les sols agricoles. L'arrêté du 8 janvier 1998 stipule notamment les teneurs maximales autorisées en métaux dans les boues et dans les sols susceptibles d'accueillir ces boues (Roger et Jacq, 2000),

Tableau I.2 : Valeurs limites de pollution des sols au-delà desquelles une décontamination doit être réalisée (Roger et Jacq, 2000)

Polluant (ppm)	USA	Bade-Wurtemberg	Land de Hambourg	Pays Bas	Finlande	Canada
Arsenic	0,37	130	100	55	50	50
Benzène	2,5	0,1	nc	1	5	5
Brome	nc	nc	nc	300	300	nc
CCl4	1,5	0,001	nc	1	50	nc
Chlorobenzènes	170	nc	nc	30	20	10
Cuivre	nc	nc	3000	190	500	680
Cyanure total	nc	150	nc	20	500	500
Etain	nc	nc	nc	300	300	300
HAP	nc	nc	nc	40	200	nc
Hydrocarbures	nc	nc	nc	5000	5000	800
Mercure	23	40	200	10	10	10
Nickel	1600	300	4000	210	500	500
Organochlorés	nc	0,2	nc	9	70	50
PCB	nc	3	nc	1	10	50
Pesticides	1,9	nc	nc	4	20	nc
Phénol	nc	nc	nc	40	10	10
Plomb	nc	4000	3000	530	600	1000
Toluène	150	nc	nc	130	nc	nc
Xylène	97	nc	nc	25	nc	nc

Selon Journal Officiel de la République française, en terme de seuils réglementaires à respecter, l'Arrêté du 2 février 1998 (Arrêté d'application) donne les seuils définis vis à vis des émissions de toute nature des installations soumises à autorisation (milieux eau, air et sol). Cet Arrêté précise également certaines valeurs limites dans les sols admises dans le cadre d'un épandage (analyse des sols requise avant opération d'épandage). Ces valeurs sont reportées ci-après pour information.

Tableau I.3 : Valeurs limites de concentrations dans les sols (Miquel , 2001 et INRIS, 2007)

Eléments en mg/kg de MS)	Norme AFNOR limite	Norme AFNOR référence	Arrêté du 8/01/1998	Arrêté du 2 février 1998	Valeur limitée pour épandage (Union Européenne)
Cadmium	40	20	20	2	20
Chrome	2 000	1000	1 000	150	1000
Cuivre	2 000	1000	1 000	100	1000
Mercure	20	10	10	1	16
Nickel	400	200	200	50	300
Plomb	1600	800	800	100	750
Sélénium	200	100	100	-	-
Zinc	6000	3000	3000	300	2500

Les transferts de métaux entre individus suivent un processus classique (dits « transferts trophiques ») Le polluant, présent dans les algues et les microorganismes est ingéré par un herbivore, lui-même proie pour un carnivore, lui-même proie d'un super carnivore, animal ou homme. En bout de chaîne, on se trouve donc avec un consommateur final ayant bioaccumulé les formes solubles des métaux. Il peut arriver, pour certains prédateurs et certains métaux, que les concentrations augmentent au fur et à mesure que l'on progresse dans la chaîne trophique. (Miquel , 2001) .

Par ailleurs, les teneurs en métaux lourds admises pour définir une toxicité des plantes et une contamination des sols en éléments traces métalliques sont données dans les tableaux I.4 et I.5.

Tableau I.4 . Teneurs critiques et normales en métaux lourds (mg/kg/MS) pour les plantes (Kabata-Pendias et Pendias, 2011 ; INRIS, 2007).

	Déficiences	Toxicité	Teneurs normales
Pb	-	12-300	1,0
Zn	15-20	100-400	50
Ni	1-5	10-100	1,5
Cu	3-5	20-50	10
Cd	-	5	0,01-1
Mn	10-20	300-500	200
Cr	-	3	1,5
As	1-2	40	3 – 10
Fe	50	1000	150
Co	0,2	15-50	0.2

L'eau est évidemment un élément particulièrement important pour les polluants en général et les métaux lourds en particulier car l'eau va entraîner des réactions chimiques liées à l'acidité, l'alcalinité, la température, l'oxygénation... Les milieux aquatiques sont très sensibles aux éléments en traces par la coexistence de deux phénomènes de bioaccumulation et de biomagnification : les éléments en traces se concentrent au fur et à mesure des absorptions dans la chaîne alimentaire (eau → plancton → poisson herbivore → poisson carnivore → homme...) (Miquel, 2001).

En droit français, selon l'arrêté du 02 février 1998 des valeurs guides ont été proposées pour un certain nombre d'éléments métalliques : certaines d'entre elles pouvant être provisoires par manque de données sur les effets sur la santé (cas de l'arsenic, du chrome, du nickel et de l'uranium, par exemple), ou à cause de difficultés analytiques pour atteindre la valeur guide recommandée (cas de l'uranium). L'ensemble de ces valeurs est reporté dans le tableau I.5.

Tableau I.5 : Limites réglementaires de concentrations dans divers types d'eau pour différents ions métalliques et métalloïdes (Andrès et al, 2007)

Valeurs limites des rejets dans les eaux superficielles (arrêté du 2 février 1998)			
Ion métallique	Valeur limite des rejets (mg · L ⁻¹)		Rejet minimal (g · j ⁻¹)
Cr (VI)			1
Cr _{Total}	0,5	1,5*	5
Pb	0,5		5
Cu	0,5	1*	5
Ni	0,5	2*	5
Zn	2		20
Mn	1		10
Sn	2		20
Fe + Al	5	5 (Al) + 2 (Fe)* ou 5 (Fe) + 2 (Al)*	20
As	0,05		0,5
Hg	0,05		-
	0,2		-

* Valeur limite de concentration, dans le cas de la fabrication ou de la transformation de l'un ou de plusieurs des 5 métaux ainsi repérés.

1.5.2- Les réglementations environnementales Algériennes

L'Algérie est confrontée actuellement à de sérieux problèmes de pollution. En effet, les pollutions engendrées par le rejet d'eaux industrielles non traitées, les émissions de gaz nocifs, la production de déchets dangereux, la déforestation, la désertification, et la dégradation de l'écosystème posent de sérieux problèmes environnementaux. (Ramdane, 2011)

Le secteur de l'environnement connaît actuellement des mutations à travers notamment le renforcement du cadre institutionnel et juridique.

Ces politiques interviennent notamment pour aider les entreprises industrielles à réduire ou à éliminer leurs pollutions et l'unité de collectes, de traitement et de recyclage des déchets, ainsi que par la nouvelle fiscalité écologique basée sur le principe pollueur payeur afin d'inciter à des comportements plus respectueux de l'environnement.

Sur le plan législatif et réglementaire, plusieurs lois ont été promulguées :

- Décret exécutif n° 06-141 du 19 avril 2006 définissant les valeurs limites des rejets d'effluents liquides industriels ;
- La loi du 01-02 du 19 juillet 2001 instaure la création d'un Fonds National pour l'environnement et la dépollution ;
- l'ordonnance N°96-13 du 15 juin 1996 modifiant la loi N°83-17 du 16 juillet 1983 portant code des eaux stipule l'obligation d'épuration des eaux usées d'origines urbaines ou industrielles ;
- Décret exécutif N° 93 – 160 du 10 juillet 1993 réglementant les rejets d'effluents liquides industriels ;
- la loi N°91-25 du 18 décembre 1991 instaure la taxe sur les activités polluantes ou dangereuses (ANONYME, journal officiel).
- Ratification du protocole de Kyoto ;
- Entrée en application de la fiscalité écologique en janvier 2005, le montant de la taxe est de 24000 DA/ tonnes de déchets liés aux activités de soin des hôpitaux et cliniques et de 10500 DA / tonne de déchets industriels dangereux stockés (Ramdane, 2011) ,(Ainouz et *al.*, 2005).

✓ *Limites de rejets*

Selon l'article 4 du la Décret exécutif n° 06-141 19 avril 2006 , JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE, toutes les installations générant des rejets d'effluents

liquides industriels doivent être conçues, construites et exploitées de manière à ce que leurs rejets d'effluents liquides industriels ne dépassent pas à la sortie de l'installation les valeurs limites des rejets, tableau ci dessous et doivent être dotées d'un dispositif de traitement approprié de manière à limiter la charge de pollution rejetée.

Les valeurs limites de rejets d'effluents liquides industriels sont celles fixées en annexe du Décret exécutif n° 06-141 du 19 avril 2006 (tableau I.6) .Toutefois, en attendant la mise à niveau des installations industrielles anciennes dans un délai de cinq (5) ans, les valeurs limites des rejets d'effluents liquides industriels prennent en charge l'ancienneté des installations industrielles en déterminant une tolérance pour les rejets d'effluents liquides industriels émanant de ces installations (Anonyme, Journal officiel).

Tableau I.6 : Valeurs limites des paramètres de rejets des effluents Liquides Industriels

Elément	valeurs limites mg/l	tolérances aux valeurs limites anciennes installations
Aluminium	3	5
Cadmium	0,2	0,25
Cuivre total	0,5	1
Mercure total	0,01	0,05
Plomb total	0,5	0,75
Chrome Total	0,5	0,75
Etain total	2	2,5
Manganèse	1	1,5
Nickel total	0,5	0,75
Zinc total	3	5
Fer	3	5



Chapitre II :

Techniques de dépollution



1- Techniques de dépollution

Les techniques de réhabilitation doivent être adaptées à la nature chimique des polluants et à leur dangerosité.

Deux possibilités se présentent alors :

- l'immobilisation qui consiste à modifier la mobilité des polluants ou leur toxicité, en agissant par exemple sur le niveau d'oxydoréduction, la complexation ou la précipitation, ou alors en modifiant le milieu récepteur par réduction de la perméabilité et de la porosité.
 - ou la destruction partielle ou totale de la pollution en utilisant des procédés chimiques, thermiques, physiques ou biologiques (BRGM , 2010)

Il existe deux grandes catégories, d'une part les techniques physico-chimiques et du Génie civil, et d'autre part, les techniques basées sur l'utilisation des plantes et microorganismes associés, appelées techniques biologiques. (Mench et al. 2005)

Ces techniques physicochimiques de traitement peuvent être résumées comme suit :(**Figure 7**)

- les traitements 'hors site' supposent l'excavation/extraction du milieu pollué (déchets, terre, eau) et son évacuation vers un centre de traitement spécialisé (incinérateur, centre d'enfouissement technique).
- les traitements 'sur site' consistent à excaver les terres ou les eaux polluées et à les traiter sur le site même :
- les traitements '*in situ*' correspondent à un traitement sans excavation, le sol et les eaux souterraines sont laissés en place. Il s'agit alors soit d'extraire le polluant seul, soit de le dégrader ou de le fixer dans le sol,
- confinement : il consiste à empêcher/limiter la migration des polluants. Cette méthode peut être combinée au traitement 'sur site' et '*in situ*' et ne pas faire l'objet d'une technique de traitement à part entière.

1.1- Les différentes techniques de dépollution des sols

1.1.1- Les techniques physicochimiques

Les techniques les plus utilisées pour décontaminer les sols pollués par les métaux lourds sont les techniques physico-chimiques. Dans les techniques chimiques, le lessivage (washing) qui consiste à lessiver les contaminants à l'aide de chélateurs. L'électro-migration qui utilise un courant électrique. L'immobilisation des contaminants dans le sol est réalisée par l'apport d'amendements qui provoque des réactions de précipitation, d'échange d'ions et d'adsorption sur les colloïdes du sol.

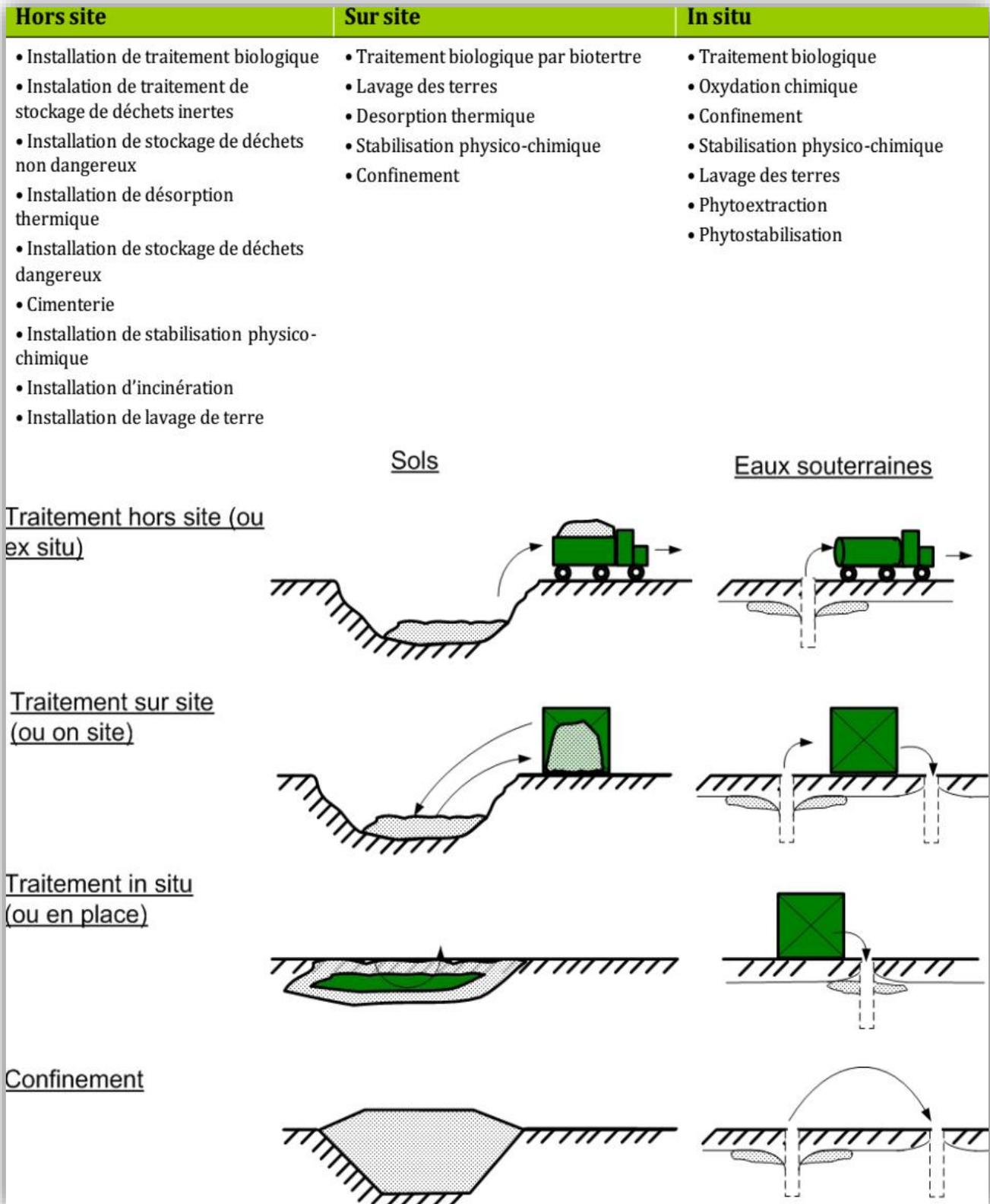


Figure II.4 : Techniques de dépollution des sites par lieu de traitement ainsi que les détails des différents procédés (Hyman and Dupont 2001)

Il existe plusieurs types d'extraction des métaux dont l'extraction électrique pour laquelle des électrodes poreuses sont implantées dans le sol et le courant généré fait migrer les ions métalliques vers la charge opposée à la leur, les polluants sont ensuite récupérés par pompage. (Figure I.5).Lorsqu'il est combiné avec chauffage électrique, la technique électrocinétique peut également être utilisée pour éliminer les produits chimiques organiques polaires et non polaires à partir du sol et des eaux souterraines. (Pichtel, 2007).

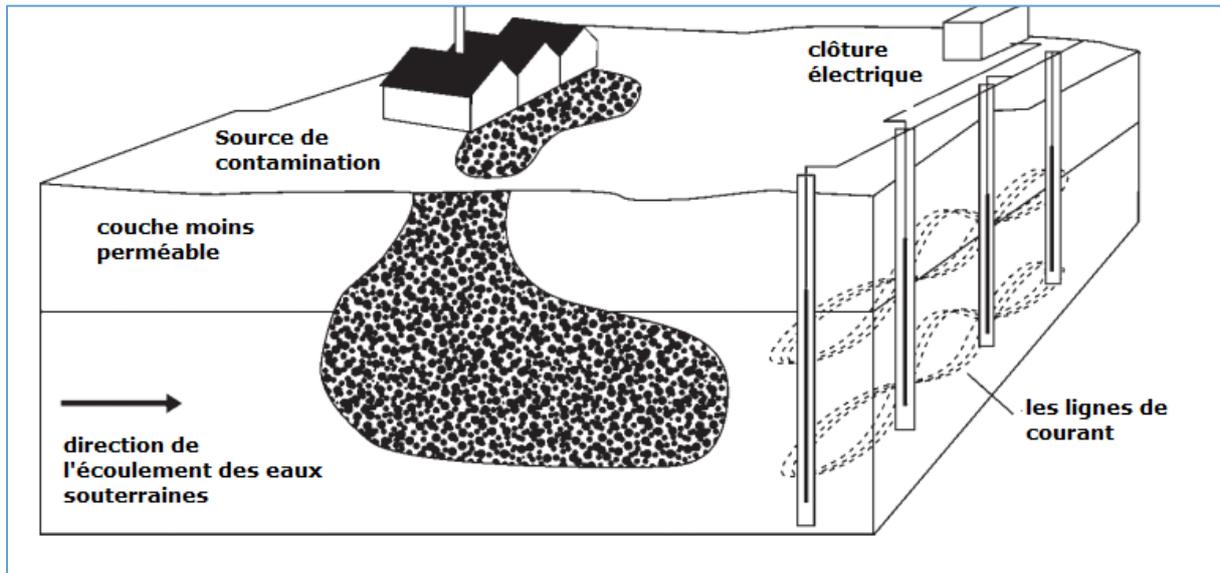


Figure II.5. Vue schématique d'une clôture électrocinétique enfermant un plumet de contaminants ((Pichtel, 2007).

L'extraction utilisant une solution acide, afin de solubiliser les éléments métalliques, est aussi possible. Si les sols ne peuvent pas être traités sur le site ils sont excavés et par la suite soit stockés dans des décharges soit traités, par exemple par un lavage sous haute pression d'eau ou par lavage avec de l'eau additionnée de tensioactifs.

Cependant, toutes ces techniques sont souvent difficiles à mettre en place, coûteuses et destructrices pour l'écosystème. Ces techniques ont beaucoup évolué durant les deux dernières décennies permettant ainsi des projets économiquement réalisables et un abattement satisfaisant des pollutions pour de petits volumes. Elles sont bien, pour des surfaces polluées plus importantes, de plusieurs centaines à plusieurs milliers d'hectares, les solutions économiquement et techniquement possibles sont rares.

Des développements technologiques ont été et sont en cours d'élaboration afin de stabiliser et/ou d'éliminer la pollution par des techniques physico-chimiques (flux électrique,...) et thermiques.

Par ailleurs des techniques biologiques faisant intervenir des organismes vivants (microorganismes, plantes, animaux) sont de plus en plus appliquées et trouvent un écho favorable auprès des pouvoirs publics et des populations. (Vijgen, 2002 ; Zhitong et al , 2012 ; Chandra Sekhar *et al.*, 2005)

1.1.2- Méthodes biologiques

Les microorganismes telluriques éliminent plus ou moins rapidement les polluants organiques biodégradables, mais les métaux lourds (cadmium, cuivre, mercure, plomb et zinc) et les métalloïdes (sélénium et arsenic) persistent dans l'environnement et s'accumulent inévitablement. Ils peuvent migrer vers les eaux de surface ou souterraines ou pénétrer la chaîne alimentaire via les végétaux pour se retrouver dans les animaux et éventuellement dans l'homme. Lorsque le risque pour les écosystèmes et l'homme est très élevé, la dépollution s'impose. Il existe certes des méthodes physico-chimiques permettant la décomposition des polluants. Les plus utilisées sont l'incinération et les méthodes de décomposition chimique. Elles sont très efficaces pour certains types de contaminants présents dans le milieu mais présentent des inconvénients. Les interventions sont lourdes et onéreuses et laissent en général un sol stérile. Par exemple, le traitement chimique par lavage élimine aussi les microorganismes telluriques et l'humus.

1.2- La bioremédiation

La bioremédiation, c'est-à-dire l'emploi de procédés biologiques pour éliminer les polluants industriels qui contaminent le cycle biogéochimique des substances naturelles, est une option avantageuse pour diminuer la pression exercée sur l'environnement. La bioremédiation consiste à utiliser des systèmes biologiques pour réduire le niveau de pollution. (Glazer et Nikaido 1995). Cette méthode, peu coûteuse, peut être appliquée *in situ*, sans excavation de la terre ni dommages au sol.

Le procédé de la bioremédiation consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes, la plupart des temps microscopiques (bactéries, micro-algues, champignons), à dégrader les polluants en composés inertes, comme l'eau et le gaz carbonique. Ces organismes peuvent être indigènes (déjà présents dans la zone polluée), ou exogènes (ajoutés au milieu), ou encore être prélevés sur le site contaminé, cultivées au laboratoire puis réintroduits dans le sol. Il existe plusieurs méthodes de traitement biologique. Parmi celles-ci, il est possible de compter le bioréacteur, la phytoremédiation, le compostage,

le landfarming, le biosparging, l'atténuation naturelle contrôlée, la barrière perméable réactive, ou encore l'électroremédiation. (Dufresne, 2013)

1.2.1- L'atténuation naturelle,

La définition la plus utilisée à l'heure actuelle est celle des Etats-Unis (United States Environmental Protection Agency EPA, 1996) : Processus se produisant naturellement dans les sols et les eaux souterraines, sans intervention humaine, visant à réduire la masse, la toxicité, la mobilité, le volume ou la concentration des contaminants dans ces milieux. Les processus pris en considération sont : la dispersion, la dilution, la volatilisation, l'adsorption, les mécanismes de stabilisation ou de destruction des polluants, qu'ils soient physiques, chimiques ou biologiques.

L'atténuation naturelle d'un ou de plusieurs contaminant(s) est le résultat de la combinaison de plusieurs phénomènes physiques, chimiques et biologiques dans un milieu (notamment aquifère ou sol). Ces phénomènes modifient le comportement du ou des contaminant(s) et peuvent aboutir à sa disparition ou modifier sa forme chimique (spéciation), en rendant le polluant plus ou moins mobile et/ou plus ou moins toxique.(BRGM, 2003) .

Cette technique part du principe que la microflore indigène d'un site pollué a su s'adapter à la pollution considérée et peut utiliser les polluants comme nutriments. La population bactérienne capable d'utiliser ces polluants prolifère et peut alors devenir dominante (Mulligan et Yong 2004). Cette technique est néanmoins appliquée à un nombre réduit de sites en raison du temps de dépollution qui peut parfois atteindre plusieurs dizaines d'années et de la surveillance permanente qui s'impose (Heitzer et Sayler 1993 ; BRGM, 2010).

1.2.2- La biostimulation

Elle consiste à accroître l'activité de la microflore indigène, notamment en terme de croissance et de dégradation, par apport de nutriments (carbonés comme source d'énergie, minéraux) et/ou d'accepteurs finaux d'électrons (oxygène, nitrate, sulfate) pour pallier la pauvreté en nutriments du sol disponibles pour les microorganismes.

La biostimulation implique la modification de l'environnement pour stimuler les bactéries existantes capables de bioremédiation. Cela peut être fait par addition de diverses formes de nutriments limitant et des accepteurs d'électrons, tels que le phosphore, l'azote, l'oxygène ou le carbone (par exemple sous la forme de mélasse), qui sont par ailleurs disponibles en quantités suffisamment faibles pour limiter l'activité microbienne.(Adams et al, 2015) .

La gestion « à l’aveugle » de la microflore caractérise cette technique puisque les microorganismes qui bénéficient de la « stimulation » ne sont pas forcément ceux impliqués dans le traitement du (des) contaminant(s) (El Fantroussi et Agathos 2005);

1.2.3- La bioaugmentation,

Cette technologie consiste à introduire des cultures de microorganismes à la surface du milieu contaminé dans l’objectif d’augmenter la biodégradation des contaminants organiques. Les microorganismes employés peuvent être issus de sélections réalisées à partir d’échantillons environnementaux (sols, sédiments, boues, etc.). Elle est largement utilisée pour décontaminer les sites contenant des hydrocarbures : Les microorganismes choisis sont des bactéries dotées d’une grande capacité de digestion de ces hydrocarbures. Des microorganismes génétiquement modifiés peuvent être utilisés à ce titre mais leur introduction dans l’environnement doit faire l’objet de contrôles (Sayler et Ripp, 2000).

2- Les différentes techniques de dépollution des eaux

Les traitements les plus courants pour abattre la pollution métallique contenue dans les eaux usées (urbaines ou industrielles) et les eaux à potabiliser sont respectivement la précipitation et la coagulation-floculation. Néanmoins, des procédés spécifiques ou d’affinage permettent également l’élimination des métaux lourds et/ou des métalloïdes (Andrès et Faur-Brasquet, 2007). Une synthèse des procédés utilisés est donnée dans le tableau II.7

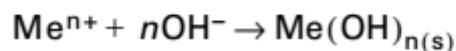
Tableau II.7. Synthèse des principaux procédés d’élimination des métaux en traitement d’eau potable et d’eaux usées industrielles et urbaines. (Andrès et Faur-Brasquet, 2007)

Procédés	Eau potable	Eau usée
Précipitation		X
Coagulation-floculation	X	
Echange d’ions	X	X
Transfert liquide-solide	X	X
Electrolyse		X
Membranes		
• osmose inverse	X	X
• nanofiltration	X	X
• électrolyse		X
Phytoremédiation		X

2.1- Précipitation

La précipitation chimique est le traitement le plus utilisé pour l'élimination des métaux lourds dissous contenus dans les eaux usées, telles que les effluents industriels de traitement de surface ou d'hydrométallurgie.

La précipitation des cations métalliques par des hydroxydes se fait en présence de soude ou de la chaux. Elle se fait en fonction de pH et d'autres facteurs physico-chimiques. L'élimination des ions métalliques nécessite plusieurs étapes à différentes pH, dû à l'existence d'une plage optimale de pH caractérisant chaque métal selon la réaction suivante : (Andrès et Faur-Brasquet, 2007 ; Yong et Sheremata, 1991)



2.2- La coagulation

La coagulation est un procédé physico-chimique qui facilite l'agglomération des colloïdes et particules. Elle consiste en une déstabilisation de ces particules colloïdales, suivie d'une floculation permettant de rassembler les micro micelles formées et enfin d'une étape de séparation des phases solide et liquide par décantation ou filtration. C'est donc un traitement physique qui permet d'éliminer tous ou une partie des polluants des effluents notamment les fractions particulaires inertes ou vivantes, les fractions floculables des matières organiques et de certains métaux lourds, les micropolluants associés aux MES et les macromolécules colloïdales (Adamczyk, Z. 2003 ; Andrès et Faur-Brasquet, 2007)

2.3-Échange d'ions

Dans l'échange d'ions, les ions contenus dans une solution sont éliminés et remplacés par une quantité équivalente d'autres ions de même charge électrique. Ce procédé est utilisé majoritairement en récupération de métaux contenus dans des effluents industriels, tels que le chrome en traitement de surface, ou l'or et l'argent dans les industries électroniques et photographiques. Il contribue également à l'adoucissement de l'eau potable, pour éliminer les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} et dans une moindre mesure les cations Cu^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} ou Zn^{2+} . (Andrès et Faur-Brasquet, 2007).

L'échange d'ions est à la base d'un grand nombre de procédés chimiques qui peuvent se classer en trois catégories principales : Substitution, Séparation, Élimination. L'usage des résines échangeuses d'ions présente plusieurs avantages notamment la facilité de régénération

sans utiliser de traitement thermique, ce qui permet un gain d'énergie et prolonge aussi la durée de vie de la résine (Tan Y. et al., 2005).

2.4- Le transfert liquide-solide : sorption

La sorption définit la propriété de certains matériaux de fixer à leur surface des ions ou des molécules de façon plus ou moins réversible. Les procédés de sorption ne représentent pas les technologies les plus courantes d'élimination de la pollution métallique.

Leur application est toutefois envisagée pour éliminer spécifiquement certains composés (par exemple, élimination d'arséniate par des hydroxydes d'aluminium et de fer sous forme solide ou réaliser un traitement d'affinage post-précipitation permettant d'atteindre les seuils réglementaires de rejet (utilisation de charbon actif en grains pour éliminer Hg, Cd, Ag ou Pb. Par ailleurs, bien que peu développées à l'échelle industrielle, les technologies de bio sorption semblent prometteuses vis-à-vis du traitement de la pollution métallique, tant en termes de capacités épuratoires que de coûts.

2.5- L'électrolyse

Les réactions d'électrolyse, sous l'influence d'un champ électrique, sont mises en œuvre pour extraire les métaux présents en solution. L'application d'une différence de potentiel entre deux électrodes plongées dans une solution contenant des ions métalliques crée un champ électrique orienté dans lequel les ions se mettent en mouvement. Lorsqu'un courant électrique est appliqué, les ions positifs se déplacent vers la cathode, tandis que les ions négatifs se déplacent vers l'anode. Au niveau des électrodes, les cations sont réduits et les anions sont oxydés. L'électrolyse permet de réduire les cations métalliques à l'état élémentaire par transfert de phase entre la solution et la cathode solide.

L'électrolyse peut être couplée à une technique membranaire (diaphragme, membrane échangeuse d'ions) pour réaliser une électrolyse « séparative » à des fins de récupération sélective d'un métal ou d'amélioration du rendement de l'électrolyse simple. (Chopra et al , 2011 ; Andrès et Faur-Brasquet, 2007)

2.6- Les membranes

Les procédés membranaires sont devenus de plus en plus présents dans divers secteurs comme l'industrie pharmaceutique, l'industrie agro-alimentaire, la production d'eau potable, le traitement des eaux d'égouts et des rejets. Les systèmes membranaires offrent les avantages suivants : sélectivité, surface importante par rapport à leur volume, et possibilité de mettre en

contact et/ou de mélanger deux phases. Les techniques les plus utilisées pour l'élimination des métaux sont l'osmose inverse, la nanofiltration et l'électrodialyse (Charcosset, 2006).

Parmi les techniques les plus utilisées en milieu industriel et selon la complexité de l'effluent ou des volumes des effluents industriels à traiter, les dispositifs basés sur les chaînes de filtration sur membranes, plus faciles à gérer et à contrôler qu'un dispositif biologique sont recommandés. Plusieurs degrés de porosité sont disponibles, de la microfiltration à la nanofiltration. Il faut s'assurer que l'effluent soit compatible au milieu naturel dans lequel il est déversé afin de préserver ses caractéristiques physico-chimiques. Les résines échangeuses d'ions apportent une solution sélective puisqu'il devient possible d'échanger des ions polluants contre des ions qui ne le sont pas. A ce titre et dans un proche futur, les membranes seront de plus en plus complexes et apporteront des solutions communes aux procédés d'échanges d'ions. Ces nouvelles membranes filtreront sélectivement les métaux lourds ou autres molécules et certaines exerceront une activité bactéricide. On parle de membrane « active » aux débits décuplés et anticolmatante.

Les membranes, dont le rôle est apparenté à celui des plantes, arrêtent les molécules et les particules en fonction de leur taille. Plus le degré de porosité est faible plus la nanofiltration est intéressante. Il existe 2 types de membranes pour un résultat sensiblement identique mais pour des caractéristiques physico-chimiques différentes, les membranes organiques (polymères) étant moins chères et plus fragiles thermiquement que les membranes minérales (céramique).

La technique des bioréacteurs à membranes céramiques pour le traitement des effluents industriels permet de répondre à des effluents dangereux.

Un bio réacteur à membranes céramiques couple un bassin biologique à une unité d'ultrafiltration tangentielle dont la porosité peut être fixée de 0,1 microns à 20 kilodaltons (niveau moléculaire). Les membranes permettent de retenir ainsi toutes les MES et la totalité des micro-organismes y compris ceux qui se développent lentement dans le bassin biologique. Par rapport à une station classique (biologie + clarificateur) (Becquart, 2004).

2.7- La Phytoremédiation des eaux

Cette technique consiste à faire circuler des eaux usées au travers de racines de végétaux qui, en association avec le sol et les microorganismes, sont capables d'absorber les éléments minéraux issus de la décomposition de la matière organique, mais aussi d'autres catégories de polluants. Face à ces constatations, la phytoremédiation a été définie comme l'utilisation de

plantes vertes et de leur microbiotes associés, d'amendement du sol et de techniques agricoles pour éliminer, contenir, ou rendre moins toxiques les contaminants environnementaux (Cunningham et al., 1997).

2.8-Les filtres végétaux (marais artificiels)

Les filtres plantés est un concept de station de type extensif. Le principe consiste à faire passer les eaux usées à travers un massif granulaire plantés de végétaux (des macrophytes généralement comme typha et roseau).

Les racines des végétaux permettent une bonne circulation des fluides et ils supportent comme le massif granulaire, les microorganismes épurateurs.

Des cycles d'alimentations suivis de cycles de repos permettent la minéralisation de la matière organique entrante. Deux stratégies sont appliquées : les flux horizontaux (figure II.9) et les flux verticaux (figure II.10)

Ces techniques d'épuration demandent la duplication des bassins afin de recevoir l'eau usée qui arrive en continu. Une fois par an, les roseaux sont coupés et repoussent au printemps. Ce sont des technologies extensives qui s'intègrent merveilleusement bien dans le paysage car on ne voit que la masse verte des végétaux. (Molleta, 2009)

2.8.1- Type des marais artificiels

L'utilisation des zones humides dans le traitement des eaux usées est relativement une nouvelle technologie. Les marais artificiels pour le contrôle de la pollution, le traitement des eaux usées et, récemment, pour le traitement des eaux souterraines contaminées, sont divisés en deux types de base : les marais artificiels à surface d'eau libre FWS figure II.6a et à écoulement sous-surface (SSF) figure II.6b.

Les deux types sont constitués d'un canal ou d'un bassin avec une sorte de barrière pour empêcher l'infiltration et utilise la végétation aquatique émergente comme une partie du système de traitement.

La différence entre les deux systèmes FWS et SSF est que le SSF utilise un type de milieu comme une composante majeure. Dans un traitement des zones humides FWS, le sol prend en charge les racines de la végétation émergente ; l'eau à une profondeur relativement faible de 15 à 70 Cm de flux à travers le système avec la surface de l'eau exposée à l'atmosphère. L'oxygène est fourni par la diffusion à travers la surface de l'eau. (Suthersan, 2001)

- **Systems à Flux Horizontal**

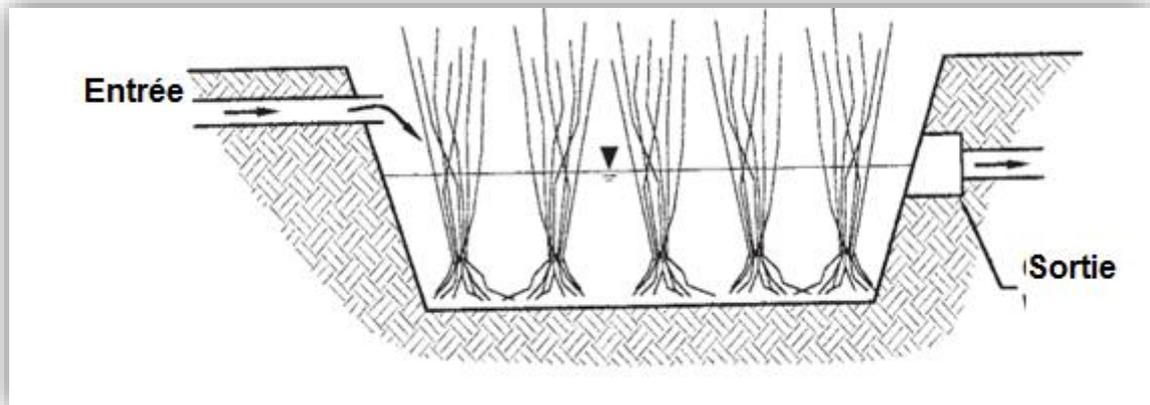


Figure II.6a: Les marais artificiels à surface d'eau libre (FWS) (Free water surface wetland) (Suthersan, 2001)

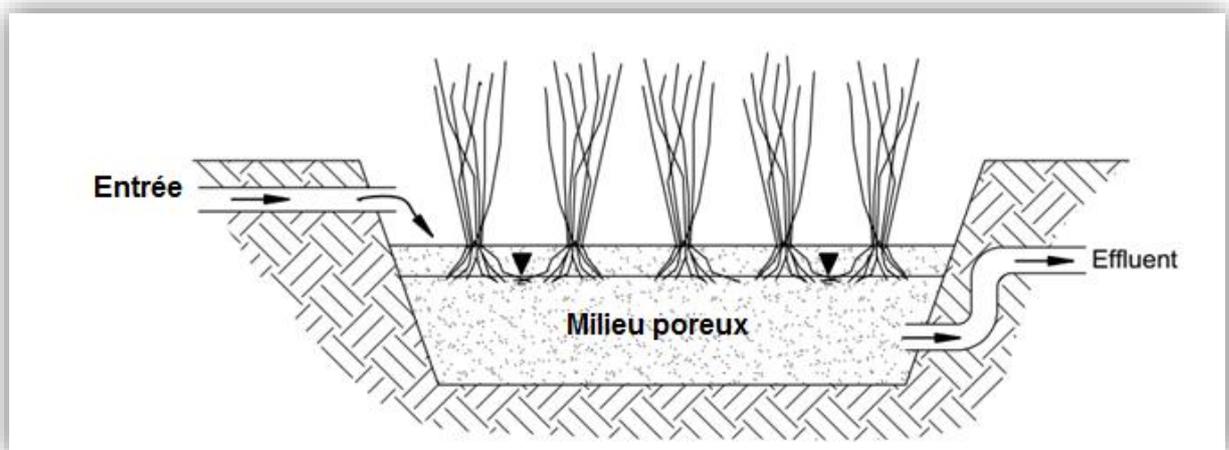


Figure II.6 b: Les marais artificiels à écoulement sous-surface (Subsurface flow (SSF) wetland) (Suthersan, 2001).

Dans la stratégie du flux horizontal, on met en œuvre une circulation horizontale de l'effluent prétraité qui reste en dessous du niveau du lit granulaire. Pendant son passage à travers le massif l'eau est traitée. Comme précédemment, les cycles d'alimentation permettent l'élimination de la pollution organique et cycles de repos permettent la minéralisation de la biomasse formée auparavant.

Un lit de traitement de SSF des zones humides contient une profondeur appropriée (0.3 - 0,9 m) de milieux poreux perméables, tels que du sable grossier ou de pierre concassée, à travers

laquelle l'eau s'écoule. Les milieux soutiennent également la structure des racines de la végétation émergente. La surface de l'eau qui se trouve sous la surface de la couche supérieure du support, déterminé par la conception hydraulique et des structures de contrôle de flux appropriés. Dans les deux systèmes l'eau polluée subit des processus physiques, biologiques et chimiques de traitement.

La vitesse à laquelle les contaminants organiques se déplacent à travers les zones humides peut être déterminée par plusieurs mécanismes de transport. Ces mécanismes agissent souvent simultanément sur les matières organiques et peut inclure des processus tels que la convection, la diffusion et la dispersion (Suthersan, 2001).

- **Système à flux vertical**

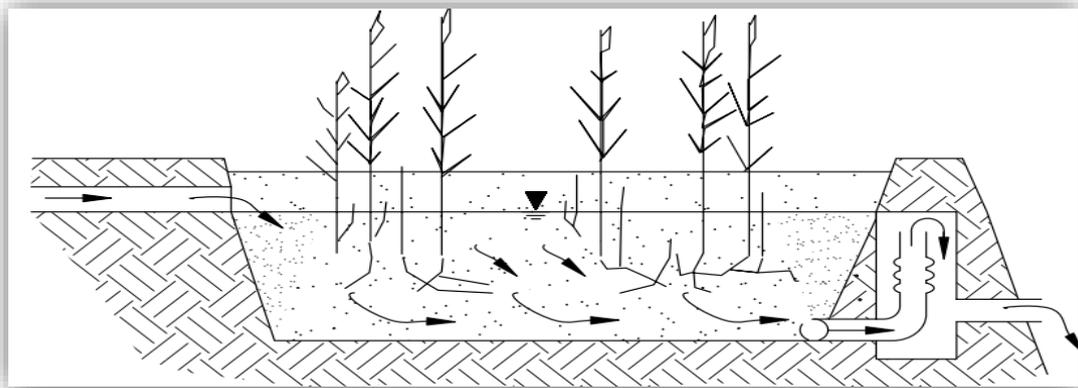


Figure II.7 : Les marais artificiels à écoulement vertical (Vertical flow constructed wetland) (D'après Suthersan, 2001)

L'eau polluée est appliquée à des intervalles de temps sur toute la surface de la zone humide.

L'eau coule à travers un milieu perméable est recueilli au fond.

Dans les flux verticaux (Figure II.7), l'effluent est apporté par bâches qui couvrent toute la surface et descendent dans le massif filtrant. En passant, il entraîne un renouvellement de l'air dans le massif et entraîne donc un apport d'oxygène qui permettra les réactions de nitrifications qui conduiront ensuite à la dénitrification. Les cycles d'alimentation permettent l'élimination de la pollution organique et cycles de repos permettent la minéralisation de la biomasse formée précédemment. Ce type de système a été recommandé pour le retrait des niveaux élevés d'ammoniac par nitrification. (Suthersan, 2001 ; Moletta, 2009).



Chapitre III :

La phytoremédiation



1- La phytoremédiation

1.1- Définition de la phytoremédiation

Connue sous le nom de phytoremédiation « phyto » = plante et « remedium » = rétablissement de l'équilibre, remédiation, la phytoremédiation est définie comme l'utilisation de plantes pour extraire ou transformer les polluants organiques et aussi inorganiques (plus particulièrement les métaux lourds) (Salt et al., 1998).

La phytoremédiation est une technique de réhabilitation environnementale qui utilise les capacités des plantes pour éliminer, contenir, ou rendre moins toxiques les polluants. L'idée d'utiliser les plantes pour la réhabilitation environnementale est ancienne, puisqu'il y a 300 ans les hommes utilisaient déjà les plantes pour le traitement de l'eau. Cependant, ce n'est que récemment que l'utilisation des plantes pour la réhabilitation des sols a pris son essor (Salt et al., 1995 ;Suthersan, 2001).

1.2- Techniques de phytoremédiation

Le terme générique de phytoremédiation regroupe deux stratégies de remédiation : (i) la phytostabilisation qui vise à réduire la mobilité des contaminants, en particulier des métaux, dans des sols ou des sédiments contaminés ; (ii) la phytodécontamination qui vise à réduire la teneur des contaminants présents dans le milieu (Buchanan et al., 2002). (Figure III.8)

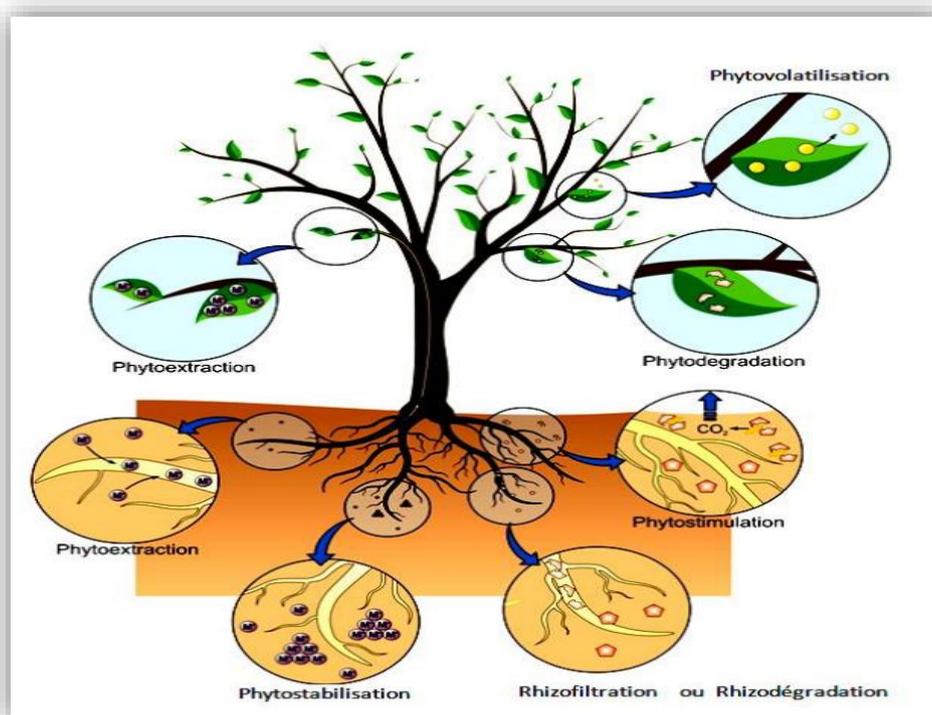


Figure III.8 : Représentation schématique des différentes stratégies de phytoremédiation (modifiée) (Favaset al., 2014)

1.2- Phytostabilisation

La phytostabilisation utilise le couvert végétal pour diminuer la mobilité et labiodisponibilité des métaux présents dans le substrat et, dans l'idéal, immobiliser les métaux in situ. Les plantes utilisées en phytostabilisation sont des espèces métallo tolérante s'adoptant une stratégie d'exclusion. Les métaux sont piégés au niveau de la racine, en limitant la dispersion des contaminants vers les nappes phréatiques, l'atmosphère et les écosystèmes avoisinants. Eventuellement, des amendements réduisant la disponibilité des métaux lourds, peuvent être combinés à la plantation de végétaux (Cunningham and Berti, 1993) et (Vangronsveld et al., 2009).

1.3- La phytodécontamination

La phytodécontamination permet de réduire la teneur des contaminants présents dans le milieu, elle regroupe plusieurs techniques selon le type d'action des plantes, la nature du milieu contaminé à traiter et la nature des polluants.

1.3.1- Rhizofiltration :

La rhizofiltration appelée également la phytoépuration (ou la phytofiltration), utilise des racines des plantes pour dégrader et/ou éliminer les polluants des effluents (eaux de surface, eaux souterraines extraites, eaux usées, boues liquides). Les systèmes racinaires favorisent la dégradation et la minéralisation de composés organiques, ils absorbent, précipitent et concentrent les métaux (Raskin et al., 1994).

Certaines plantes aquatiques peuvent absorber les métaux contenus dans l'eau, c'est le cas notamment de *Oenanthesp.*, *Juncussp.*, *Typhasp.*, *Callitriche sp.1*, et *Callitriche sp.2* (Ladislav et al, 2011) et la jacinthe d'eau *Eichhorniacrassipes* (Kabeer et al., 2014).

Cependant, ces plantes ont un potentiel de rhizofiltration limité car leur système racinaire n'est pas assez développé. La forte teneur en eau de ces plantes aquatiques est un inconvénient pour leur séchage, compostage ou encore leur incinération (Zhu et al. 1999).

1.3.2- Phytoextraction

Cette technique est basée sur la capacité de certaines plantes à capter, transporter et accumuler les métaux dans les tiges et les feuilles, grâce aux mécanismes de compartimentation et de chélation. Certaines espèces sont même capables de mobiliser les métaux afin de faciliter leur accumulation (Raskin et al., 1997).

1.3.3- Phytostimulation(ou Rhizo-dégradation)

Utilise les plantes et les microorganismes associés pour transformer au niveau de la rhizosphère les polluants organiques toxiques en substances moins toxiques. La phytostimulation se rapproche plus de la bioremédiation assistée par les plantes puisqu'elle repose sur l'action des microorganismes rhizosphériques.

Elle exploite l'effet stimulant de la rhizosphère sur la dégradation microbiologique des contaminants.

En effet, les plantes émettent des exsudats racinaires qui peuvent être utilisés par les communautés microbiennes et approuver leur développement et leurs activités.

Cette stimulation des microorganismes rhizosphériques modifie la bioaccumulation, l'oxydation/réduction biologique et la biométhylation des métaux lourds (McGrath, 1998 ;Tak et al., 2013 ; Ahemadand Kibret, 2014).

1.3.4- Phytovolatilisation

Elle se base sur l'utilisation de plantes qui absorbent des contaminants toxiques tels que le mercure, le sélénium et l'arsenic(Hg, Se, As), afin de transformer certains éléments volatils du sol sous forme gazeuse (ex., le diméthylséléénide) et de les éliminer dans l'atmosphère par évapotranspiration via leurs feuilles .

Pour les éléments comme le sélénium ou le mercure qui deviennent volatils une fois méthylés, il est possible de transformer une plante pour lui faire exprimer une méthylase, qui permettra la dispersion de la pollution par volatilisation.(Souza et al., 1998 ; McGrath, 1998 ; Michaille, 2014).

1.3.5- Phytodégradation

Elle utilise les plantes pour métaboliser les polluants. Cette méthode concerne des polluants facilement biodégradables tels que les composés organiques comme les pesticides et les explosive (2,4,6-trinitrotoluene , TNT).

La phytodégradation est la capacité des plantes de transformer des polluants organiques en sous-produits peu ou pas toxiques pour la plante (Newman et Reynolds, 2004). Elle ne s'applique donc pas aux métaux lourds. La dégradation peut se faire au niveau des racines ou dans les parties aériennes sans intervention de microorganismes.

Nous nous focaliserons sur les deux premières techniques qui concernent essentiellement les métaux lourds.

Il existe d'autres stratégies, qui sont considérés comme des catégories de phytoremédiation par certains auteurs, mais en fait, ils sont des techniques mixtes ou variations des stratégies mentionnées ci-dessus. Ceux-ci inclus :

- **Barrières hydrauliques** : quelques grands arbres, en particulier ceux avec des racines profondes (par exemple, *Populus* sp.), enlever de grandes quantités d'eau souterraine pendant la transpiration. Les contaminants dans cette eau sont métabolisés par les enzymes végétales et vaporisés avec de l'eau ou tout simplement séquestrés dans les tissus végétaux.
- **Couverture végétale** : couverture végétale sur un sol pollué évite la dispersion des poussières chargées en éléments nocifs (généralement des métaux lourds : cadmium, plomb, zinc...), ainsi que le lessivage du sol par les eaux de ruissellement, source de pollution pour les nappes phréatiques. En outre, les racines peuvent fixer et stabiliser ces métaux lourds. Les plantes choisies doivent être résistantes à la pollution et posséder un système racinaire très développé (peupliers, saules, aulnes, graminées telles que *Festucarubra*...). (Favaset al, 2014)
- **Les marais artificiels** : Les marais filtrants artificiels (treatmentwetlands ou constructed wetlands en anglais) sont des écosystèmes recréés artificiellement afin de traiter une large gamme d'eaux usées, dont des effluents municipaux, industriels et agricoles.
L'épuration des eaux usées en marais filtrants se fait selon une combinaison de processus physiques, chimiques et biologiques. Les plantes jouent un rôle essentiel en marais filtrant, notamment en favorisant le développement des microorganismes et en oxygénant le milieu. (SQP, 2014 ; Favaset al, 2014)
- **Phyto dessalement** : Le phytodessalement est une approche biologique de dessalement des sols affectés par les sels. Il repose sur l'aptitude des halophytes obligatoires à accumuler des quantités énormes de sodium au niveau de leurs organes aériens. Le présent travail est une évaluation de la capacité de phytodessalement de trois espèces halophytiques : *Tecticornia indica*, *Suaeda fruticosa* et *Sesuvium portulacastrum*, *Atriplex halimus*. (Rabhi, 2011 ; Favaset al., 2014).

2- Phytoextraction des sols contaminés par les métaux lourds

Parmi les différentes méthodes de phytoremédiation, la plus utilisée est la phytoextraction, appliquée particulièrement pour la dépollution des métaux lourds et s'adresse aux sols moyennement à faiblement contaminés. (figure III.9).

Cette technique consiste à utiliser des plantes capables de prélever les métaux lourds, de les transférer et de les accumuler dans les parties aériennes qui seront ensuite récoltées. Après récolte par des méthodes traditionnelles agricoles, les tissus végétaux ayant concentré les métaux lourds seront traités par séchage, incinération ou compost. Cette technique représente une alternative ou un complément aux traitements physico-chimiques des sols contaminés par les métaux lourds. Le procédé est répété

jusqu'à ce que l'abaissement du niveau de pollution du sol soit significatif. (Salt et al., 1998 ; Cooper et al., 1999, ADEME, 2010).

Pour le traitement de la biomasse produite, les auteurs évoquent souvent l'incinération et la valorisation énergétique. Les cendres, ou le biominéral, seraient stockées en centre d'enfouissement technique ou recyclées en métallurgie. En effet, pour certains métaux présentant un intérêt économique, comme le nickel, le thallium et les métaux précieux, le biominéral pourrait être purifié et les métaux recyclés (ADEME, 2010)

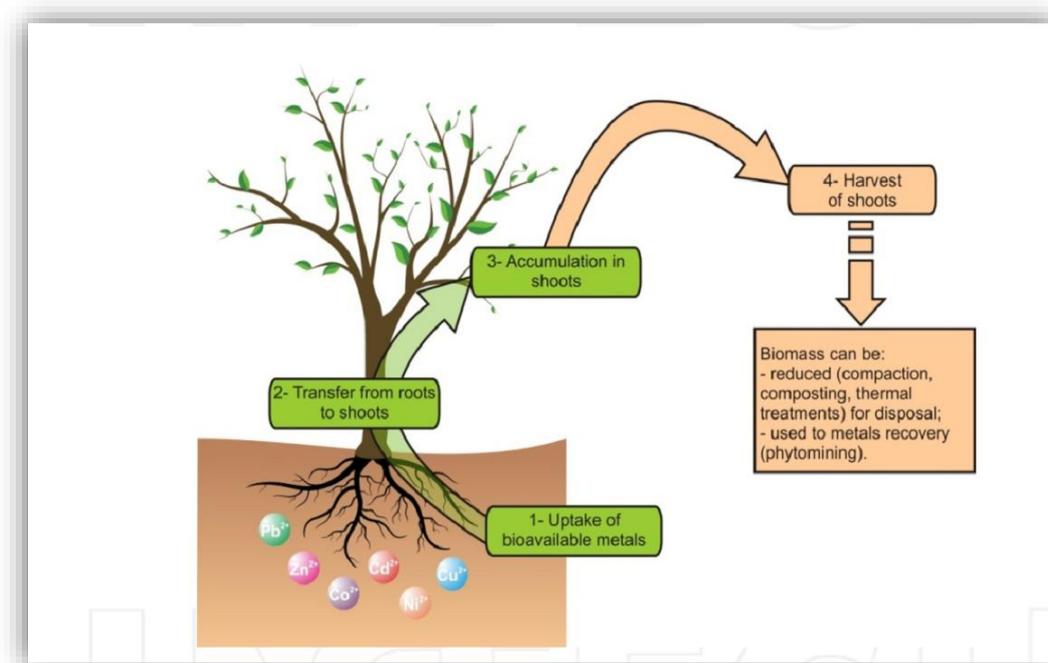


Figure III.9. Représentation schématique de phytoextraction des métaux à partir du sol (Favaset al., 2014).

Il existe deux stratégies de phytoextraction, la phytoextraction assistée (induite) et la phytoextraction continue. La phytoextraction est dite induite lorsqu'elle est assistée par des chélateurs de métaux qui sont appliqués au moment où la production de biomasse est optimale. S'il n'y a pas d'utilisation de chélateurs, il s'agit de phytoextraction continue.

2.1- Phytoextraction induite

La phytoextraction induite (**Figure III.10**) se fait en présence de chélateurs et de plantes à forte biomasse et à croissance rapide. Lorsque la plante a atteint un certain niveau de croissance, les chélateurs de métaux sont appliqués au sol. Ceux-ci permettent d'induire l'accumulation de métaux lourds dans la plante par augmentation de la biodisponibilité de l'élément ciblé.

En matière de phytoremédiation induite, plusieurs résultats ont été obtenus en fonction des espèces et la pollution ciblée. En effet, les travaux de Luo et al (2006) sur la phytoextraction de Cu, Pb, Zn et Cd par *Zea mays* L. assisté par des rapports de 1:1, 1:2, et 2:1 (EDTAéthylène diamine tetraaceticacid /EDDS éthylène diamine disuccinate) montrent que le rapport 2: 1 de l'EDTA: EDDS est le rapport le plus efficace pour augmenter les concentrations de Cu, Pb, Zn et Cd dans les parties aériennes.

L'application combinée de 3,33 mmol d'EDTA / kg de sol + 1,67 mmol EDDS/kg de sol de produit 650 mg /kg de Pb dans les parties aériennes, qui était de 2,4 et 5,9 fois la concentration de Pb dans les plantes traitées avec 5 mmol/ kg d'EDTA et EDDS seul, respectivement.

Le phytoextraction total de Pb atteint 1710 µg/ kg du sol, qui était de 2,1 et 6,1 fois le total Pb à partir de 5 mmol EDTA et EDDS / kg seul, respectivement.(Luo et al, 2006) .

Jarvis et Leung (2002), ont montré que la plante *Pinusradiata* n'est capable d'accumuler naturellement que 60 à 80 mg.kg⁻¹ de plomb ; l'application d'un chélateur synthétique, comme l'EDTA ou l'H-EDTA multiplie par 5 ou 6 son pouvoir d'absorption du plomb (Jarvis et Leung, 2002).

En fait, lors de l'ajout du chélateur dans le site contaminé par Zn, Mn et Pb, celui-ci sont absorbés et migrent vers la partie aérienne de *Brassicanapus* où ils s'accumulent sous la forme du complexe metal-EDTA(Zaier et al, 2010) . Ce phénomène a pu être décrit *Ipomoneaaquatica* (water spinach); l'ajout d'EDTA permet une augmentation de l'accumulation de chrome (Cr III) dans la partie racinaire (Chen et al., 2010).

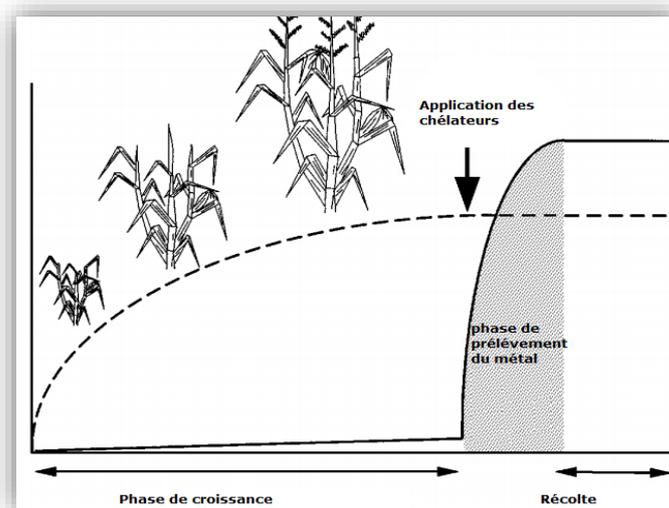


Figure III.10. Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs. La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne. (Salt et al., 1998)

2.2- Phytoextraction continue

Pour pratiquer la phytoextraction continue (Figure III.11) les plantes utilisées doivent se caractériser par leurs capacités génétiques et physiologiques des plantes spécialisées dans l'absorption, la translocation et la tolérance (transfert du polluant des racines vers les feuilles) des quantités importantes de polluants (métaux lourds) dans leurs organes, ainsi que sa capacité à résister à de fortes teneurs en métaux. Ces teneurs très supérieures aux niveaux habituellement rencontrés ont donné leur nom aux plantes hyperaccumulatrices, et la notion d'hyperaccumulation.

Brooks et al. (1977) ont utilisé le terme « hyperaccumulateur = hyperaccumulatrice » la première fois pour décrire des plantes avec une teneur en nickel supérieure à 0,1% de leur matière sèche, ce qui correspond à une valeur nettement plus élevée que celle rencontrée chez les plantes non accumulatrices (Brooks et al., 1977).

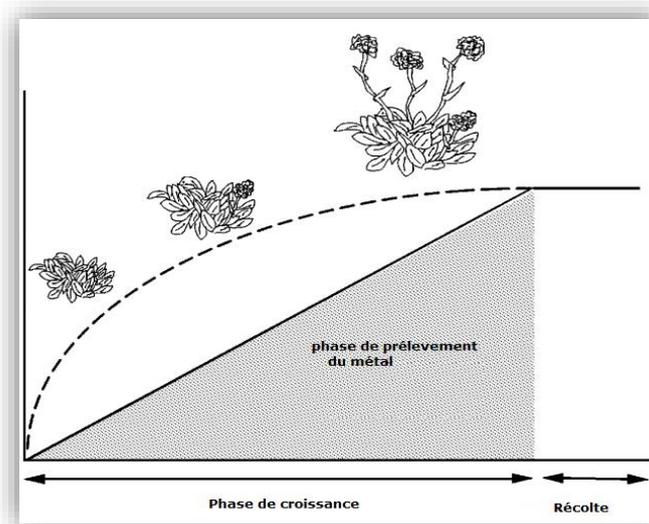


Figure III.11. Schéma représentant une phytoextraction continue : La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne. (Salt et al., 1998)

Certaines plantes sont naturellement capables d'accumuler de fortes teneurs en métaux : ce sont des plantes *accumulatrices*, les teneurs accumulées dans leurs tissus sont supérieures à celles présentes dans le sol. Certaines sont dites *hyperaccumulatrices*, si elles sont capables d'accumuler plus de 10000 mg·kg⁻¹ de Mn, Ni ou Zn, plus de 1000 mg·kg⁻¹ de Cu, Co, Pb, Cr, ou plus de 50 mg·kg⁻¹ de Cd dans leurs feuilles (Baker and Brooks, 1989; Brooks, 1998). L'hyperaccumulation concerne un large éventail de métaux, et il existe environ 440 espèces reconnues de plantes hyperaccumulatrices (e.g. *Alyssumbertolonii*, *Alyssum murale*, *Berkheyacoddii*, *Sebertiaacuminata*, *Silenecobalticola*, *Thlaspi caerulescens*, *Brassicinapus*, *Pterisvittata*), dont plus de 300 sont les hyperaccumulatrices de Ni.

Selon Baker et Brooks (1989), les plantes hyperaccumulatrices devraient avoir une valeur seuil d'accumulation de métaux lourds dans leur partie aérienne à 1% pour Zn, Mn, 0,1% pour Pb, Cu et Al, 0,01% pour Cd et Se et 0,001% pour Hg de leur matière sèche.

Brooks et al. (1977) ont utilisé le terme « hyperaccumulateur = hyperaccumulatrice » la première fois pour décrire des plantes avec une teneur en nickel supérieure à 0,1% de leur matière sèche, ce qui correspond à une valeur nettement plus élevée que celle rencontrée chez les plantes non accumulatrices (Brooks et al., 1977).

Aussi, selon Baker et Brooks (1989), les plantes hyperaccumulatrices devraient avoir une valeur seuil d'accumulation de métaux dans leur partie aérienne à 1% pour Zn, Mn, 0,1% pour Pb, Cu et Al, 0,01% pour Cd et Se et 0,001% pour Hg de leur matière sèche. Lombi et al., 2001 ont mis en évidence l'accumulation de 8,3 mg.kg⁻¹ de Cd et 200 mg.kg⁻¹ de Zn par *Thlaspi caerulescens*, cette plante extrêmophile s'étant développée sur un sol contenant 19 mg.kg⁻¹ de Cd et 2920 mg.kg⁻¹ de Zn. Cependant, ces plantes qui tolèrent des concentrations 5 à 100 fois plus élevées que les autres métallobytes (Zn, Pb, Cd) ont une croissance lente et possèdent une faible biomasse. Par conséquent, un temps assez long est nécessaire pour décontaminer un site.

De plus, l'accumulation d'un métal peut être modifiée quand on est en présence d'un sol contenant une contamination polymétallique. Actuellement, environ 400 espèces hyperaccumulatrices ont été répertoriées, on peut citer par exemple le tournesol, le colza, l'orge, le pissenlit (Baker et al., 1999).

2.3- Les métaux lourds et les plantes

Le choix des plantes dans la phytoremédiation repose essentiellement sur le principe du transfert des métaux lourds (Eléments en Traces Métalliques (ETM)) aux plantes. Ce dernier selon Redon (2009) « ...dépend de nombreux paramètres abiotiques (physicochimie du sol, minéralogie) et biotiques (plante, microorganismes). Alors que la mobilité des ETM dans les sols est fortement influencée par les paramètres du sol, en particulier le pH, les teneurs en éléments et en matière organique et la composition en minéraux, la composante biologique du sol joue aussi un rôle prépondérant. La disponibilité des ETM est en effet fortement dépendante des espèces végétales étudiées car leurs capacités de prélèvement des métaux sont variables ».

Le risque qu'il faut prendre en considération est que les ETM peuvent facilement être bioaccumulés dans les organismes et agissent sur les mécanismes physiologiques. Les cations métalliques lors de l'absorption de nutriments entrent en compétition et en cas d'accumulation dans l'appareil végétatif des plantes, ils interfèrent dans les fonctions essentielles que sont la photosynthèse. Ainsi ils peuvent être à l'origine de phytotoxicité par les métaux qui se remarque par certains symptômes visuels comme l'arrêt de la croissance et la destruction par nécrose des parties aériennes des plantes. Cette

bioaccumulation doit être prise en charge en affinant le choix axé sur la grande capacité des plantes à bioaccumuler.

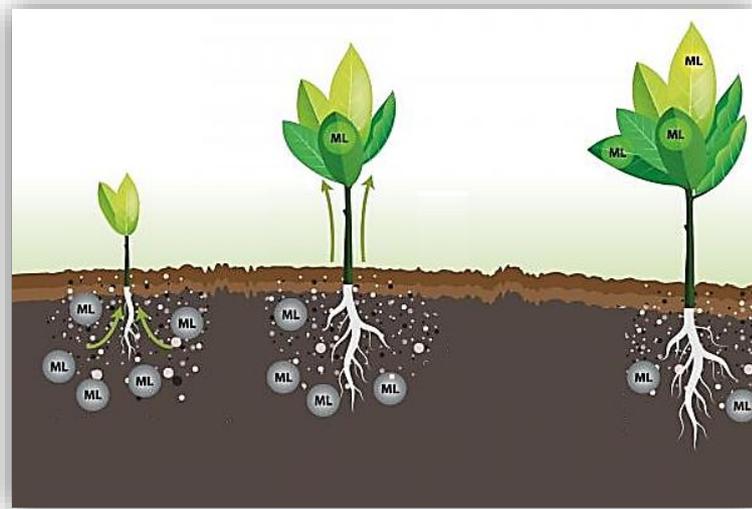


Figure III.12. Transfert des métaux lourds aux plantes (Theunis, 2015)

3- Importance de la phytoremédiation et phytoextraction

Cette technique issue de la bioremédiation consiste en l'utilisation des plantes comme outil de dépollution (phytoremédiation) pour extraire les polluants du sol (phytoextraction et phytovolatilisation) ou en réduire leur mobilité (phytostabilisation) (Chaney et al., 1997). Plusieurs auteurs soulignent l'espoir sur l'emploi de plantes pour dépolluer des milieux (sols et effluents) car c'est une technologie peu coûteuse et qui a le mérite de ne pas être destructrice pour l'environnement. En phytoextraction, l'emploi de plantes hyperaccumulatrices, capables de tolérer de fortes concentrations en métaux dans leurs parties aériennes et ainsi de les extraire du sol, ou de plantes à forte biomasse (McGrath et al., 2001) a été proposé depuis une quinzaine d'années (Cunningham et al., 1995) mais le processus est très lent et le devenir de la biomasse végétale contaminée qui est récoltée est problématique.

3.1- Phytoremédiation

L'utilisation des plantes pour nettoyer les eaux contaminées par des polluants organiques et inorganiques est une technique vieille de plusieurs centaines d'années (Hartman, 1975) alors que l'utilisation des plantes pour retirer les polluants organiques des sols contaminés est beaucoup plus

récente. Des observations nombreuses ont montré que la disparition des polluants est plus rapide sous couvert végétal que sur sol nu, d'où l'intérêt à exploiter cette voie (Burken et Schnoor, 1996).

Selon Schnoor et al. (1995), les plantes ont une capacité à absorber et métaboliser toute une gamme de polluants organiques néfastes pour l'environnement.

Les plantes libèrent également des exsudats racinaires, en plus de l'absorption directe et de la métabolisation des composés organiques, et de ce fait augmentent la bioremédiation microbienne (ou phytoremédiation *ex planta*) au sein de la rhizosphère.

La plupart des composés organiques semblent subir un certain degré de transformation dans les cellules de la plante avant d'être séquestrés dans les vacuoles ou liés à des structures cellulaires insolubles comme la lignine. Cependant, d'après Hughes (1997), peu de composés sont entièrement minéralisés en eau et CO₂). Cela induit parfois un autre problème, les composés issus de la dégradation peuvent aussi des polluants pouvant avoir un effet de toxicité. D'où la nécessité de prendre en charge à court et long terme les plantes saturées de polluants ainsi que tous les produits de la biodégradation.

3.2- La phytoextraction

Les plantes permettant une phytoextraction continue sont capables d'accumuler au sein même de leurs tissus des quantités importantes de polluants notamment les métaux lourds. Selon leur pouvoir découlant de leurs déterminations génétiques et physiologiques, elles peuvent naturellement contenir jusqu'à 1% de leur matière sèche en zinc, nickel, manganèse, ou sélénium etc.... Ces teneurs très supérieures aux niveaux habituellement rencontrés ont donné leur nom aux plantes hyperaccumulatrices, et la notion d'hyperaccumulation. Cette propriété d'hyperaccumulation est la conséquence d'une autre propriété, l'hyperlotérance (ou phytotolérance) développée par ces plantes au cours de l'évolution, dans les conditions hostiles et toxiques des sites métallifères.

Ces plantes sont appelées métalloytes si elles poussent exclusivement en présence de métal, ou pseudo-métalloytes si la présence de métaux n'est pas indispensable à leur développement (Salt et al., 1998).

La phytoextraction n'est qu'une alternative servant souvent de complément aux traitements physico-chimiques et techniques des sols et même des eaux contaminées par des métaux lourds. Le principe repose sur l'utilisation des plantes accumulatrices qui concentrent les polluants dans leurs parties récoltables (feuilles, tiges, graines, etc...). La recherche de cette gamme de plantes est donc à faire au niveau des sites contaminés (sols miniers ou des sols de friches industrielles riches en métaux).

Les premières expériences de phytoextraction ont été menées sur des sols agricoles que l'on cherchait à ramener à des teneurs légales en métaux. Les avantages de cette méthode sur les méthodes déjà existantes sont nombreux :

- l'activité biologique et la structure des sols sont maintenues après le traitement
- la technique est d'un coût relativement faible (voir les aspects économiques)
- le paysage reste (ou devient) agréable grâce à l'implantation d'un couvert végétal (reverdissement, floraison)
- les métaux extraits peuvent facilement être récupérés

Après la théorie, reste à savoir comment ces processus peuvent être utilisés par l'homme, de façon efficace (la phytoextraction continue semble pouvoir être rapidement opérationnelle).

4. L'hyperaccumulation

L'exploitation de la documentation spécialisée permet de lister plus de 500 espèces de plantes reconnues comme étant des hyperaccumulateurs de métaux lourds, la majeure partie d'entre elles (300 espèces) accumulant le Nickel. Une plante est dite hyperaccumulatrice à partir d'une concentration dépendant du métal : plus de 1 000 mg/g de matière sèche dans les feuilles pour le nickel, plus de 10 000 mg/g pour le zinc.

Tableau III.8 : Nombre de taxons

Nombre de plantes hyperaccumulatrices			
Métal	Concentration dans les feuilles (% de matière sèche)	Nombre de taxons	Nombre de familles
Cadmium	> 0,001	1	1
Cobalt	> 0,1	26	12
Cuivre	> 0,1	24	11
Plomb	> 0,1	5	3
Nickel	> 0,1	plus de 300	35
Manganèse	> 1	8	5
Zinc	> 1	18	5

Source : Morel et al. 1997

Selon le métal en question dans la plante, les métaux vont se complexer avec des acides organiques ou des acides aminés synthétisés par la plante et une assez grande partie du métal absorbé sont transportés des racines vers les parties aériennes (tiges et feuilles). Ce phénomène physiologique naturel permet d'étudier la capacité des plantes à stocker les métaux lourds.

L'hyperaccumulation semble avoir une grande importance écologique. Elle influencerait notamment sur la résistance à la sécheresse, les interactions avec les plantes adjacentes et la défense contre les herbivores et les bactéries pathogènes. D'autre part, ces plantes peuvent permettre à des bactéries métallorésistantes de se développer dans le sol alentour.

Il y a lieu de noter que souvent les métaux lourds ne sont pas biodisponibles d'où la nécessité d'ajouter des chélateurs pour les rendre plus libres.

4.1- Choix des plantes

La sélection de végétaux supérieurs ou non est une condition importante afin d'obtenir les meilleurs résultats possibles en phytoremédiation. Des expérimentations réussies à travers l'utilisation de bactéries et algues pour la phytoremédiation de quelques métaux lourds ouvrent une autre voie intéressante. Des résultats intéressants ont été obtenus par des cultures de cellules mortes ou vivantes de *Datura innoxia*, une plante supérieure, pour retirer Ba^{2+} d'une solution. Des champignons bioaccumulateurs de métaux sont également utilisés, la fougère aquatique *Azolla filiculoides* et même des plantes supérieures aquatiques, comme *Eichhornia crassipes*, *Hydrocotyle umbellata*, *Lemna minor*, etc., ont le pouvoir de retirer divers métaux lourds d'une solution. Mais le rendement de ces organismes reste très faible, du fait de leur physiologie (petite taille, système racinaire peu développé, faible croissance). Une autre contrainte à surveiller, leur forte teneur en eau qui complique leur séchage, leur compostage et donc leur incinération.

Finalement c'est les plantes supérieures terrestres qui restent comme les meilleures candidates pour la phytofiltration. La sélection devant permettre de déterminer les plantes les plus adaptées repose sur plusieurs critères de choix :

- la plante doit être capable de tolérer, dans les cellules de ses racines et de son appareil aérien, de fortes concentrations de l'élément à retirer de l'eau.
- l'hypertolérance reste la propriété déterminante qui rend la hyperaccumulation possible et surtout intéressante.
- la plante doit être capable de transporter rapidement, et avec un taux élevé, l'élément polluant de ses racines vers son appareil aérien, et surtout d'être capable de le stocker.
- la plante doit pouvoir prélever rapidement l'élément dans le milieu extérieur aux taux où il y est présent.
- la plante doit avoir un système racinaire et foliaire développé.

La sélection des plantes reste un volet assez complexe devant la grande variété et seules des études comparatives peuvent faire un inventaire d'espèces végétales intéressantes.

Les critères déterminants pour le choix des espèces reposent sur l'alternative entre des plantes ayant de bonnes capacités à accumuler les éléments à retirer de l'eau et des plantes ayant une biomasse importante et donc un grand réservoir de stockage. Un exemple quantitatif permet de mieux cerner le problème. Considérons une culture annuelle d'une plante à forte biomasse, comme *Zea mays*, cultivée sur un sol contaminé avec un pH ajusté pour que la production soit réduite de 50%. Dans des conditions favorables, cette plante peut produire 20 tonnes de matière sèche à l'hectare.

Dans le cas d'une co-contamination à 100 mg de Zn et 1 mg de Cd, la culture souffre d'une significative réduction de production, quand l'appareil aérien contient environ 500 mg de Zn par kilogramme à la récolte, car Cd n'est pas 100 fois plus toxique que Zn : la phytotoxicité du sol due à Zn est le facteur contrôlant la récolte. Quand la récolte est réduite de 50%, la quantité de Zn retirée du sol n'est donc que de 5 kg par hectare et par an. Par comparaison, *T. caerulea*, qui peut retirer à la fois Zn et Cd du sol, produit une faible biomasse, mais peut tolérer jusqu'à 25000 mg de Zn par kg de feuilles. Même avec une faible récolte de 5 tonnes par hectare, la quantité de Zn retirée serait de 125 kg par hectare. (Sterckeman et al., 2004; Mulligan et al. 2001; Tremel-Schaub, 2005 ; Siberlin N., 1996).

Il est donc possible de déduire que la capacité à accumuler et tolérer les métaux est de plus grande importance que la quantité de biomasse produite.

En conclusion, les plantes qui sont les meilleures candidates pour la phytofiltration sont des plantes terrestres, et non aquatiques comme on aurait pu le supposer au premier abord, ayant une forte capacité de phytoaccumulation, comme le tournesol, *Helianthus annuus*.

Les plantes à utiliser doivent être choisies en fonction de la nature du polluant afin que la plante soit capable de le stocker et surtout accumuler une quantité importante de polluants. Les critères de sélection des plantes se résument comme suit :

- Capacité de la plante à accumuler les polluants
- Vitesse de croissance rapide
- Importance de la biomasse
- Résistance à une humidité permanente

5- Avantages et limites de la technique de phytoremédiation

5.1- Les avantages

La technique de phytoextraction présente de nombreux intérêts environnementaux et économiques. En effet, cette technique peut être appliquée sur des sites industriels (fonderies de métaux non ferreux, cokeries,...) et des sites agricoles (périphérie de sites industriels, épandage de déchets) afin de diminuer l'accumulation des métaux dans les sols, leur lessivage et leur transport par érosion. En

plus, le coût de la technique est bien moindre que celui de procédés traditionnels *in situ* et *ex situ* et varie selon les contaminants. Le coût d'un traitement *in situ* en présence de contaminants organiques et inorganiques est de l'ordre de 10\$ à 40\$ par tonne de sols (Mulligan et al., 2001).

D'autre part, la phytoextraction est une des seules voies pour l'extraction sélective des métaux des sols, offrant de plus la possibilité de récupérer les métaux extraits. Les plantes utilisées permettent également de conserver un paysage agréable (reverdissement et floraison), et aussi d'installer une communauté de microflore et de microfaune métallo-résistante pouvant agir en synergie avec ces plantes afin d'accélérer le processus de décontamination. Les plantes utilisées peuvent être facilement récoltées et traitées (Kumar et al., 1995; Raskin et al., 1997). D'autre part, les métaux lourds peuvent aussi être récupérés et réutilisés. Enfin, cette technique biologique est facilement acceptée par le public dans le contexte de la préservation de l'environnement, du développement durable, et dans l'aspect esthétiquement plaisant de son application.

5.2- Les limites

Comme toutes les techniques de phytoremediation, la phytoextraction comporte des inconvénients. Malheureusement, la majorité des plantes hyper-accumulatrices utilisées dans cette technique pour traiter les zones contaminées présentent une faible production de biomasse et une vitesse de croissance un peu longue ; cela demande un investissement en temps, et/ou en argent assez important. La plupart des études ont pour objectif de découvrir des plantes hyper-accumulatrices ayant une forte production de biomasse dans un temps raisonnable. De nombreuses inconnues persistent, en particulier sur la séquestration des métaux par les plantes, sur les mécanismes physiologiques de résistance et d'accumulation, ainsi que sur l'évolution à long terme des sites réhabilités *in situ*. Par ailleurs, l'application de la phytoremédiation *in situ* dans des conditions naturelles rencontre plusieurs limites. Le principal obstacle à l'affirmation de la phytoremédiation, et plus particulièrement de la phytoextraction, comme technologie de dépollution à part entière, est la durée de traitement.

En effet, la dépollution par les plantes est conditionnée avant tout par les cycles de croissance végétale. Or, sous nos climats les plantes ont généralement un seul cycle végétal par an et les plantes hyper-accumulatrices ont à la fois une croissance lente et une faible biomasse. Par conséquent, un temps de traitement assez long, de nombreuses années, serait alors nécessaire pour réduire les teneurs en métaux d'un site jusqu'à un niveau acceptable. Salt et al. (1995) estiment que l'utilisation des plantes hyper-accumulatrices naturelles nécessiterait 13-16 ans pour dépolluer un site. Toutefois, il faut noter que la gamme de variation de la durée effective nécessaire pour dépolluer un sol par phytoextraction est plus large et fortement contexte-dépendante. Les temps de traitement dépendent des caractéristiques du sol, de la nature des métaux considérés, du niveau de la pollution, ainsi que des espèces végétales utilisées.



Chapitre IV :
Matériels et méthodes



Introduction

Ce chapitre présente les dispositifs expérimentaux et les techniques utilisées pour caractériser plantes et sols. Il regroupe donc les matériels et méthodes des expériences dont les résultats sont présentés dans la partie suivante.

Trois plantes ont été étudiées, visant à suivre le développement et la croissance de la plante ainsi que l'accumulation du Ni dans ses tissus. Les premières cultures ont été réalisées en conditions hydroponique de façon à contrôler l'exposition des racines par le Ni. Les secondes ont été conduites en sol (pots) et en conditions au laboratoire.

Notre travail s'est déroulé au Laboratoire de Bioconversion Génie Microbiologique et Sécurité Sanitaire (LBGMSS) et au de laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologiques et la Géomatique (LRSBG).

1- Matériels

1.1- Présentation des plantes étudiées

La capacité de certaines plantes à tolérer ou même à accumuler des métaux a permis d'ouvrir de nouvelles voies de recherche sur le traitement des sols.

1.1.1- Le Maïs

Le maïs (*Zea mays* L., famille des Poacées) est une céréale cultivée dans diverses zones agro-écologiques, seul ou en association avec la plupart des cultures. Dans plusieurs pays, le maïs constitue l'aliment de base de nombreuses populations.



Figure IV.13. Le maïs (*Zea mays* L.)

La plante peut mesurer plus de 2 m de hauteur.

Elle se compose d'une tige unique sur laquelle poussent de longues feuilles et des fleurs mâles (situées sur la panicule terminale) et femelles. Le maïs est une plante herbacée annuelle de 40 cm pouvant atteindre 5 m. De nombreuses variétés existent selon les différentes caractéristiques, mais celles couramment cultivées ont une taille variable d'1 à 3 m.

Les racines : Les racines, du type fasciculé, sont superficielles et ne dépassent pas 50 cm de profondeur. Des racines adventives aériennes ou crampons se forment sur les nœuds de la base des tiges.

La tige : La tige est longue d'1,5 à 3,5 m et d'un diamètre important, variant de 5 à 6 cm. Elle est lignifiée, remplie d'une moelle sucrée, formée de nœuds et d'entre-nœuds (d'une vingtaine de cm chacune). Au niveau de chaque nœud est insérée une feuille de façon alternative sur la tige.

Les feuilles : Elles sont de grande taille (jusqu'à 10 cm de large et 1 m de long) et engainantes (qui collent à la tige par sa base) avec un limbe plat allongé en forme de ruban à nervures parallèles. Entre le limbe et la gaine, on distingue une petite ligule. (Escalante-Ten Hoopen & Maïga, 2012).

1.1.2- *Arundo donax* L.

C'est une graminée à rhizome caractéristique des lieux aquatiques des régions méditerranéennes. Elle a de grandes feuilles effilées, retombantes, glauques, et des panicules terminales d'épillets de couleur vert pâle à violacé.



Figure IV.14 : *Arundo donax* L. en milieu naturel.

Elle ressemble à un roseau ou à un bambou, notamment avant l'apparition des épillets. Sa hauteur varie de 1 m à 8 m selon les variétés et les conditions de culture. Avec l'hiver elle prend un aspect desséché.

L'inflorescence apparaît de septembre à octobre.

- **Caractéristiques botaniques de l'espèce**

Nom commun :

Canne de Provence, Roseau à quenouilles, Roseau des jardins, Roseau de Fréjus, Grand roseau, Quenouille, Canneville, nommé par les anglophones 'Giant reed' ou 'Spanish reed'.

Nom latin :

Arundo donax L.,

Synonymes

Arundo benghalensis Retz., *Arundo bifaria* Retz., *Arundo glauca* Bubani, *Arundo versicolor* Mill., *Donax arundinaceus* P.Beauv., *Arundo latifolia* Salisb., *Cynodon donax* (L.) Raspail, *Donax sativus* C.Presl, *Donax versicolor* P.Beauv., *Amphidonax bengalensis* (Retz.) Nees, *Scolochloa arundinacea* (P.Beauv.) Mert. &

W.D.J.Koch, *Scolochloa donax*(L.)Gaudin

famille : Poaceae.

catégorie : vivace rhizomateuse à tiges ligneuses creuses aux entre-noeuds réguliers.

feuillage : vert clair, glauque à marge rugueuse et coupante. Longues feuilles alternes rubanées (50 à 60 x 5) effilées plus ou moins retombantes.

floraison : de la fin de l'été à l'hiver (septembre-décembre selon climat). En grandes panicules plumeuses de 30 à 70 cm de long.

fruits : épillets.

croissance : très rapide.

hauteur : 2 à 8 m

plantation : toute l'année.

multiplication : asexuée, uniquement par voie végétative par prélèvement d'éclats de souches, de rejets (bouturage) .

Climat: Optimums de croissance en pleine lumière et fortes chaleurs.

sol : humide mais bien drainé de préférence assez riche, mais s'adapte à tous types de sol, argileux, sableux, salin et aride.

La plante supporte très bien la sécheresse une fois installée, et elle se cultive idéalement sur terrains humides et bien drainés.

Elle peut avoir tendance à devenir invasive si les conditions sont adaptées.

Elle se multiplie par prélèvement de rhizomes au printemps ou par bouture. *Arundo donax* L. en milieu naturel agit dans l'eau de tronçons de chaumes de 1 an (1 à 2 cm de diamètre, 3 nœuds) en utilisant la partie ou pousse des rameaux latéraux.

On peut également utiliser des chaumes de l'année mais le bouturage fonctionnera moins bien. (Jardin encyclopédie , 2014 ; Mahmoud, 2015)

1.1.3- Tournesol : *Helianthus annuus* L.

- **Description et caractéristiques**

Le nom scientifique du tournesol, *Helianthus annuus* Linnaeus, fait référence à la forme caractéristique de son inflorescence composée : le capitule. Il provient des mots grecs Helios et Anthos qui signifient respectivement " soleil " et " fleur ". Le tournesol est donc qualifié de " fleur du soleil " (sunflower en langue anglaise) ce qui fait référence au mouvement héliotropique du capitule et annuus pour sa durée de vie annuelle. L'appellation française provient quant à elle de la tendance de la plante à se " tourner vers le soleil " pendant la journée.



Figure IV.15 : Tournesol, *Helianthus annuus* L.

Le tournesol cultivé (*Helianthus annuus* L.) est une espèce diploïde ($2n = 34$ chromosomes) appartenant à l'embranchement des Spermaphytes, au sous-embranchement des Angiospermes,

à la classe des Dicotylédones, au phylum des Pariétales-Rhoeadales Synanthérales, à la famille des Astéracées ou Composées, à la sous-famille des Tubuliflores, au genre *Helianthus* L., et à l'espèce annuus. Le genre *Helianthus* L. regroupe plus de 60 espèces végétales parmi lesquelles de nombreuses plantes herbacées, annuelles ou pérennes et comporte deux espèces cultivées majeures :

Le tournesol (*Helianthus annuus* L.), cultivé pour ses graines riches en huile et le topinambour (*Helianthus tuberosus* L.), produit pour la valeur alimentaire de ses tubercules

Semé en Avril voire en Mai, le tournesol commence à fleurir en Juin. Au cours du mois de Septembre, la maturité complète des graines est atteinte. Leur humidité résiduelle est voisine de 10 %. Le capitule et la tige de la plante sont quasiment secs. La récolte par battage peut alors avoir lieu.

Le cycle végétatif du tournesol est la succession de cinq stades : la germination et la levée (émergence des cotylédons), la phase végétative (mise en place des feuilles), l'apparition et le développement du bouton floral, la floraison (épanouissement du capitule et formation des graines) et la maturation (remplissage des graines et séchage de la plante). De la germination jusqu'à la maturité, le cycle de la plante s'étale entre 120 à 160 jours (3 à 4 mois) (Ben, 2005 ; Tourte et al, 2005).

1.2- Le sol

Le sol a été prélevé dans une parcelle non cultivée de la région de Maarif de Tighenif, la Wilaya de Mascara.



Figure IV.16 : Image satellites Google Earth du site de prélèvement du sol

Le sol a été prélevé dans une parcelle non cultivée à partir de la couche supérieure de 15 cm. Le sol est séché à l'air libre, broyé puis tamisé à 2 mm. Il est ensuite homogénéisé, 3 kg sont pesés et placés dans chaque pot en plastique.

1.3- Les solutions d'arrosage

Les plantes sont soumises aux différents traitements de Ni, Cd, solution nutritive de Hoagland, NPK et EDTA.

1.3.1- Les solutions nutritives

1. 3.1.1- Solution de N.P.K (15 :15 :15)

Des amendements ont été appliqués avec une solution nutritive contenant NPK d'engrais inorganique commercial (15:15:15) à 2 g. L⁻¹ (Carbonell et al, 2011 ; Al-Menaie et al, 2012). Le NPK (15:15:15) a été obtenu à partir de complexe industriel FERTIAL, Annaba, sur la côte Est de l'Algérie.

1.3.1.2- Solution de Hoagland

La solution nutritive se compose d'un ensemble de macroéléments et de micro-éléments comme le montre le tableau 09.

Le présent travail fait suite à une étude en sol et en culture par la solution nutritive de Hoagland. (Hoagland, 1938)

L'aération des solutions nutritives pendant la culture est assurée par de petites pompes électriques, avec un débit de 5 ml/mn. Les traitements ont été effectués sur des pieds de maïs, au stade quatre feuilles.

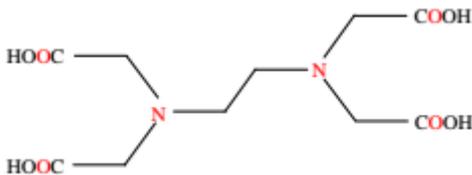
Tableau IV.9 : Composition de la solution nutritive de Hoagland

Constituant	Solutions mères g/l	Doses pour un litre	Teneur finale solution nutritive
Ca (NO ₃) ₂	24,6	20 ml	0,49 g/l
KNO ₃	10	20 ml	0,20 g/l
KH ₂ PO ₄	11,3	20 ml	0,23 g/l
MgSO ₄	24,5	20 ml	0,49 g/l
Microéléments	{ 7,56 g/300 ml Na ₂ EDTA 10,11 g/300 ml FeSO ₄ · 7 H ₂ O 400 ml H ₂ O	1 ml	

1.3.2- La solution de l'EDTA

Bien que nécessaire dans un environnement hydroponique et en sol, l'EDTA a été utilisé dans certaines expériences afin d'examiner ses effets sur la biomasse totale des plantes et la translocation et l'absorption des métaux.

L'EDTA est un complexant hexadentate (groupements amine et carboxyle)



L'EDTA a été ajouté à 0,265 g/l (0,708 mM) (et à 0.53 pour l'expérience de la culture Hydroponique) pour se rapprocher d'une concentration de 0,1 g/ kg dans des applications de pour évaluer l'impact des chélateurs synthétiques sur l'absorption des métaux et translocation. Le choix de cette concentration est basé sur les expérimentations de January et al. (2008) qui ont été réalisées sur du *Helianthus annuus L.*

1.3.3- Les solutions polluantes

1.3.3.1- Le Nickel Ni

Le Nickel est utilisé sous la forme de $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ nitrate de nickel (II) hexahydraté qui est mise en solution dans de l'eau distillée.

Afin d'obtenir une concentration de 10 ppm, 50 ppm et 100ppm nous avons procédé aux calculs ci-dessous :

$$Poids = \frac{C(\text{mg/l ou ppm}) \cdot v(\text{l}) * M_{\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}} (\text{g/mol})}{M_{\text{Ni}} (\text{g/mol})}$$

C : concentration V : volume M : masse molaire

1.3.3.2- Le cadmium

Le Cadmium est utilisé sous la forme $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ qui est mise en solution dans de l'eau distillée.

Afin d'obtenir une concentration de 10 ppm, 50 ppm et 100ppm nous avons procédé aux calculs ci-dessous :

$$Poids = \frac{C(\text{mg/l ou ppm}) \cdot v(\text{l}) * M_{\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}} (\text{g/mol})}{M_{\text{Cd}} (\text{g/mol})}$$

C : concentration, V : volume, M : masse molaire

1.4- Techniques de culture de en laboratoire

1.4.1- Culture hydroponique

Le dispositif expérimental utilisé c'est un système de culture hydroponique par solution nutritive aérée avec une pompe à air d'aquarium attaché à une ligne à un distributeur dans le fond du récipient de culture de telle sorte que l'air peut être mis à barboter dans la solution nutritive.(Figure IV.18)

Les racines sont plongées dans un milieu liquide, la solution nutritive étant contenue dans un bac de culture de taille variable (en général de matière plastique opaque). Le bac doit être peint en blanc à l'extérieur pour éviter l'échauffement du liquide à l'intérieur. Comme la solution nutritive est stagnante, la quantité d'oxygène est faible et généralement insuffisante pour le bon fonctionnement des racines. Pour éviter une asphyxie partielle (hypoxie), il est nécessaire d'enrichir régulièrement le milieu en oxygène en lui insufflant de l'air (à partir d'un compresseur, d'une turbine ou plus simplement d'une pompe à air pour aquarium) ou en

rajoutant de l'H₂O₂ (eau oxygénée). Cette aération peut être continue, mais elle est le plus souvent discontinue, à intervalle régulier durant tout le cycle. Ce bullage d'air favorise également le brassage de la solution qui évite la précipitation des engrais ainsi que leur concentration autour des racines (ce qui peut provoquer le dessèchement des racines, puis leur mort).

Les cultures hydroponiques sont économes en eau La solution nutritive précisément dosée en sels minéraux est apportée directement au système racinaire. (Benton Jones, 2014)

Le dispositif expérimental utilisé c'est un système de culture hydroponique par solution nutritive aérée avec une pompe à air d'aquarium attaché à une ligne à un distributeur dans le fond du récipient de culture de telle sorte que l'air peut être mis à barboter dans la solution nutritive.

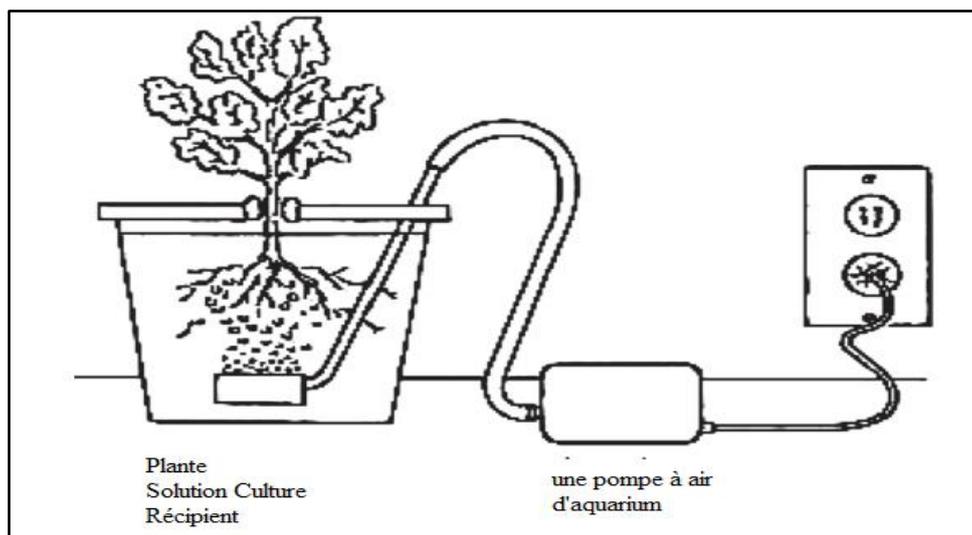


Figure IV.17 : système de culture hydroponique

Ceci est la plus ancienne technique hydroponique, les chercheurs au milieu des années 1800, ont utilisé cette méthode pour déterminer quels éléments étaient essentiels pour les plantes. Ensuite les chercheurs ont cultivé des plantes dans des solutions aérées et ont observé l'effet sur la croissance avec l'ajout de diverses substances à la solution nutritive.

1.4.2- Cultures en pots

Les cultures ont été réalisées dans des pots en plastique de 4.5 litre, 20.5 cm de diamètre. Avant la mise en pot du sol, le fond des pots est tapissé d'une couche de graviers afin d'assurer le drainage. Chaque pot a été rempli à hauteur de 3 kg de sol.

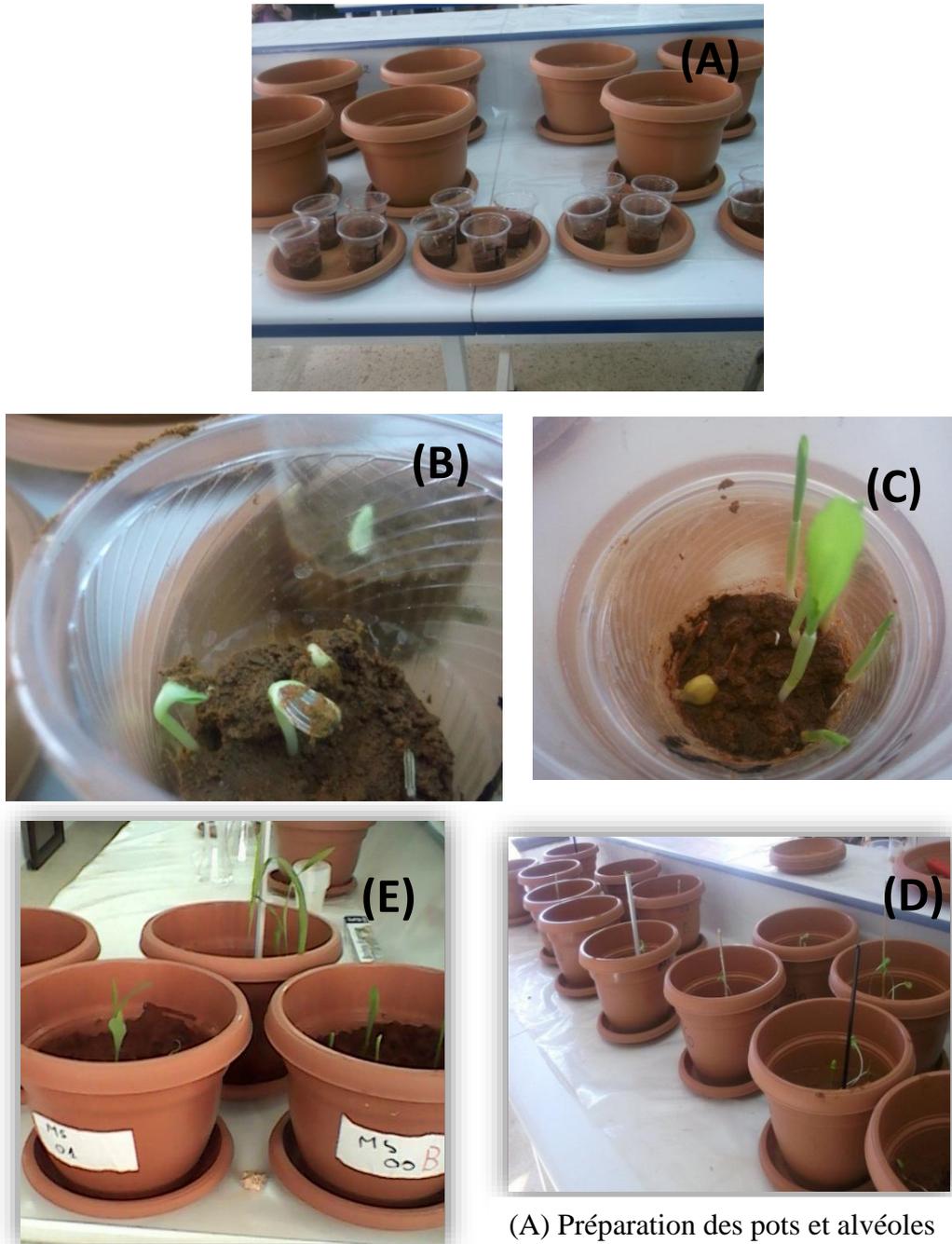
- **Germination des graines de Maïs et de Tournesol**

Au laboratoire, nous avons préparé au préalable les graines en les décortiquant de leur bractée afin de faciliter la germination. Ensuite, les graines sont sélectionnées selon leur morphologie, leur taille, leur couleur et leur aspect sanitaire (absence de contaminations). Celles-ci sont trempées dans l'hypochlorite de sodium à 8% pendant trois minutes (élimination éventuelle des champignons), puis elles sont rincées plusieurs fois à l'eau distillée. Les graines sont ensuite semées dans des alvéoles pour la production de plantules.

Le substrat contenu dans les alvéoles est constitué de sol, arrosé avec de l'eau distillée, un jour sur deux, jusqu'au développement des plantules.

- **Repiquage**

Au bout de deux semaines après l'apparition des premières feuilles, les plantules sont repiquées soigneusement à raison de trois plantules par pot. Tous les deux jours, ces plantules sont arrosées à la solution nutritive.



(A) Préparation des pots et alvéoles
(B) Germination du Tournesol
(C) Germination du Maïs
(D) Repiquage des plantules de Tournesol
(E) Repiquage des plantules de Maïs

Figure IV.18 : Germination des grains de tournesol et de Maïs dans des alvéoles et repiquage des plantules dans les pots

- **Pré-culture et culture d'*Arundo Donax L.***

Des fragments de tiges ont été imbibés à l'eau distillée et humidifiés chaque jour et après 30 jours des repousses sont sorties.

Sur l'ensemble des boutures, nous avons sélectionné des plantes de même taille : 10 cm de hauteur et ensuite transplantée dans des pots.

Les cultures ont été réalisées dans des pots en plastique de 4.5 litre, 20.5 cm de diamètre. Avant la mise en pot du substrat, le fond des pots est tapissé d'une couche de graviers afin d'assurer le drainage. Chaque pot a été rempli à hauteur de 3 kg de sol.



Figure IV.19 : Les étapes de bouturage des fragments des tiges d' *Arundo donax L.* et repiquage des plantules dans les pots

1.5- Plan des expériences

L'expérimentation comporte 4 expériences avec 2 réplicas pour chaque traitement :

Nous avons également 4 niveaux de pollution au Ni et Cd T0 (0 ppm), T1 (10ppm), T2 (50ppm), T3 (100 ppm).

Les pots sont disposés selon le plan d'expérimentation suivant :

1.5.1-Expérience 01 : Évaluation du potentiel de la phytoépuration de *Zea mays* L. des eaux contaminées par le Nickel : culture Hydroponique

✓ **Les conditions de l'expérience**

La plante : *Zea mays* L. (Maïs)

Le polluant : Nickel

La solution nutritive : solution de Hoagland

EDTA : appliqué à C₁= 0.265 g/l et C₂=0.53 g/l

✓ **Planning de l'expérience** :

22/01/2014 stérilisation et germination

31/01/2014 fin de germination arrosage par eau distillée

03/02/2014 translocation des plantules dans la solution Hoagland diluée 1/2

16/02/2014 changement de solution Hoagland dilué à 1/2 + Ni

23/02/2014 EDTA + Ni + Hoagland complet

12/03/2014, collecte des plantes et analyse après 17 jour d'exposition au Ni et EDTA (d'après January et al , 2008)

✓ **Le schéma du dispositif expérimental**

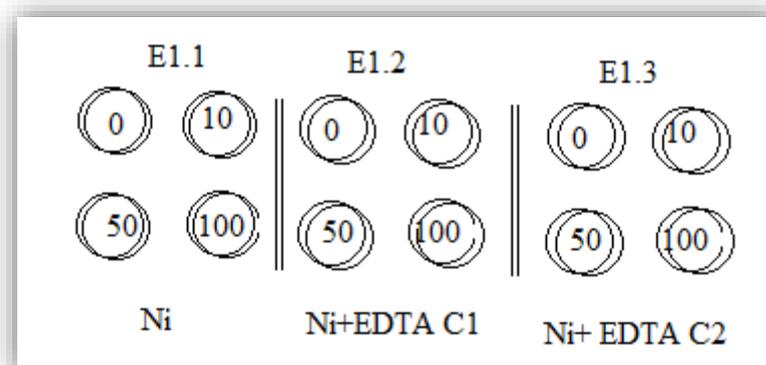


Figure IV.20 : Le schéma du dispositif expérimental 01

1.5.2-Expérience 02 : Évaluation du potentiel de la phytoremédiation de *Zea Mays* L. d'un sol contaminé par le Nickel

✓ **Les conditions de l'expérience**

La plante : *Zea mays* L. (Maïs)

Le polluant : Nickel pour accumulation

La solution nutritive : Hoagland et NPK

EDTA : appliqué à C1= 0.265 g/l

✓ **Planning de l'expérience :**

08/05/2013 stérilisation et germination

13/05/2013 translocation des plantules dans les pots

20/05/2013 Solution nutritive : Hoagland

12/06/2013 Solution polluante de Ni

20/06/2013 EDTA +Ni

07/07/2013 Collecte des plantes et analyse après 17 jour d'exposition au Ni et EDTA (d'après January et al., 2008)

✓ **Le schéma du dispositif expérimental**

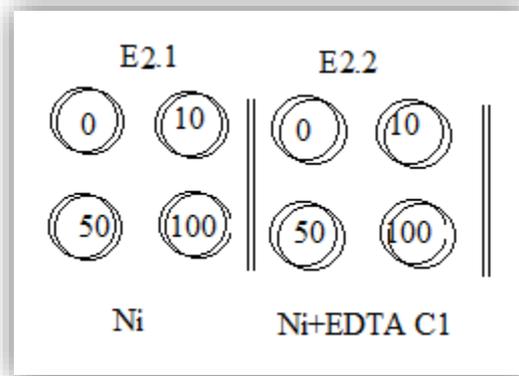


Figure IV.21 : Le schéma du dispositif expérimental 02

1.5.3- Expérience 03 : Évaluation du potentiel de la phytoremédiation d'*Arundo donax* L. d'un sol contaminé par le Nickel

✓ **Les conditions de l'expérience**

La plante : *Arundo donax* L.

Le polluant : Nickel

La solution nutritive : NPK

EDTA : appliqué à C1= 0.265 g/l

✓ **Planning de l'expérience :**

19/02/2014 humidification des segments des tiges d'*Arundo donax* L.

19/03/2014 apparition des boutures et translocation des plantules dans les pots

26/03/2014 Solution nutritive : Ni +NPK

21/04/2014 EDTA +Ni

08/05/2014 collecte des plantes et analyse après 17 jours d'exposition au Ni EDTA (d'après January et al., 2008)

✓ **Le schéma du dispositif expérimental**

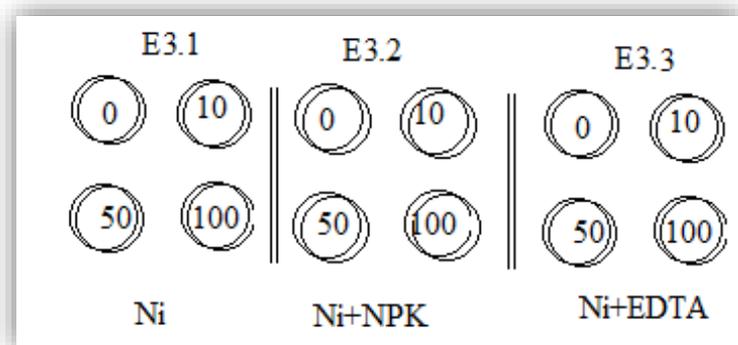


Figure IV.22 : Le schéma du dispositif expérimental 03

1.5.4- Expérience 04 : Impact des métaux lourds sur les chlorophylles et la croissance des plantes

✓ **Les conditions de l'expérience**

Les plantes : *Helianthus annuus* L., *Zea Mays* L. et *Arundo donax* L.

Les polluants : Nickel et Cadmium

La solution nutritive : NPK

EDTA : appliqué à C1= 0.265 g/l

✓ **Planning de l'expérience :**

17/02/2015 stérilisation et germination

01/03/2015 translocation des plantules dans les pots

03/03/2015 solution nutritive, Cd+Ni +NPK

08/03/2015 Ni et Cd

15/03/2015 EDTA

01/04/2015 collecte des plantes et analyse après 17 jour d'exposition au Ni , Cd et à l' EDTA (d'après January et al , 2008)

✓ **Le schéma du dispositif expérimental**

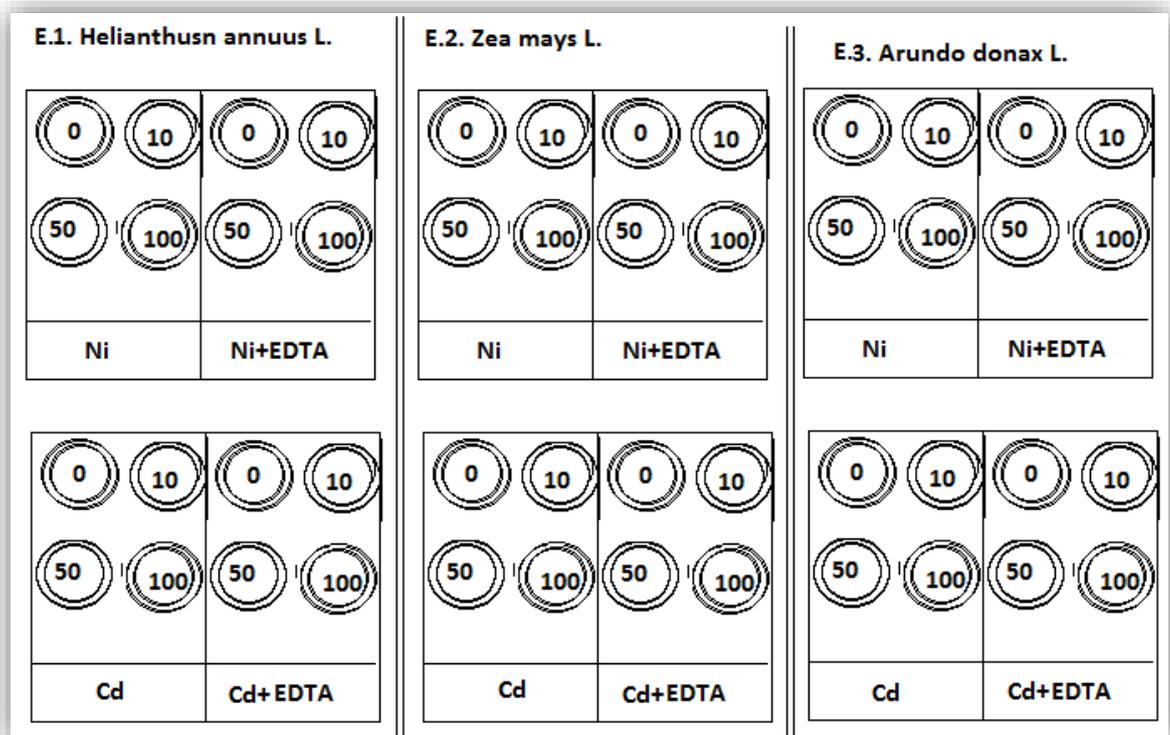


Figure IV.23 : Le schéma du dispositif expérimental 04

2- Méthodes d'analyse

2.1- Etude des paramètres éco-physiologiques

Durant toute la période de l'expérimentation, une observation visuelle (décoloration, jaunissement, pigmentation, ...) et une mesure de croissance de la partie aérienne des plantes (nombre de feuilles, longueur de tige) sont réalisées chaque semaine.

Les plantes sont traitées pendant un mois, à la fin on procède au dosage des paramètres morphologiques, physiologiques.

Une approche de la structure anatomique de l'espèce *Arundo donax* L. S'avère intéressante. L'étude histologique consiste à réaliser des coupes transversales de tiges et de racines.

2.1.1- Paramètres morphologiques

L'étude du matériel végétal a été réalisée par des observations et des mesures biométriques sur les racines, les tiges et les feuilles (Nombre des feuilles, Hauteur de la tige, Longueur de la racine)

Au terme de chaque traitement, les plantes âgées de 35 jours sont séparées en racines, tiges et feuilles. Chaque organe est pesé immédiatement pour la détermination de sa biomasse fraîche. Les racines, préalablement rincées dans de l'eau distillée, sont mises, avec leurs parties aériennes correspondantes, dans une étuve à 70°C pour la détermination de leur biomasse sèche.

2.1.1.1- Paramètres physiologiques : Les chlorophylles

L'extraction est réalisée à froid par 25 ml d'acétone à 80% pour environ 1 g de matière fraîche foliaire. Après 10 min de centrifugation à 5000 g, à 4°C, une mesure de l'absorbance A avec un spectrophotomètre de type JENWAY 6400 est effectuée à : 663 nm et 645nm pour le Chl a, Chl b et Chl total et à 470 nm pour les carotènes et xanthophylle. Le principe de dosage et description de l'appareil est détaillé dans l'annexe 1.

De nombreuses Protocoles sont connues pour le dosage des pigments, (Porra, 2002), (Pocock, 1998, Ianculov et al., 2005 ; Brezeanu, 2005)

Nous avons utilisé la méthode d'Ianculov pour sa simplicité et réalisabilité selon les travaux de (MOLDOVAN et al., 2011)

Les teneurs en pigments chlorophylliens et en caroténoïdes sont déterminées selon les équations établies par :

Selon Moldovan et al (2011) :

$$Chl\ a = 12.21.A_{663} - 2.81.A_{646}$$

$$Chl\ b = 20.13.A_{646} - 5.03.A_{663}$$

$$Chl_{total} = 17.32.A_{646} - 7.18.A_{663}$$

Avec :

Chl a : Chlorophylle a, en mg/L

Chl b : Chlorophylle b, en mg/L

Chl_{total} : Chlorophylle total en mg/L

A₆₆₃ : Absorbance a 663 nm

A₆₄₆ : Absorbance a 646 nm (Ianculov et al, 2005).

Pour déterminer les teneurs en carotène et xanthophylle, l'absorbance du même échantillon précédente a été effectué la longueur d'onde de 470 nm et calculer selon : (Brazeau, 2005)

$$C + X = \frac{1000.A_{470} - 3.27.Chl\ a - 1.04.Chl\ b}{229}$$

Avec :

C : Carotène et X : Xanthophylle

$$C = \frac{1000.A_{470} - 3.27.Chl\ a - 1.04.Chl\ b}{227}$$

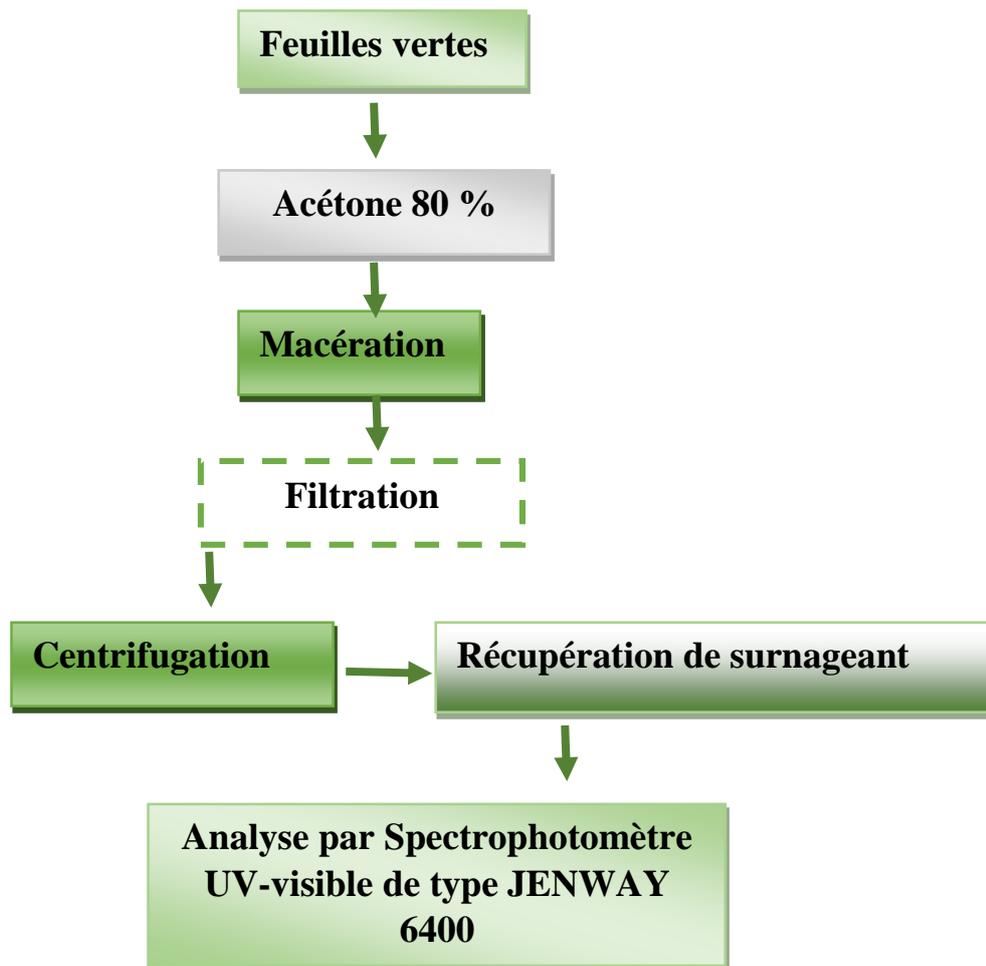


Figure IV.24 : Extraction et dosage des pigments

2.1.1.2- Etude anatomique

Une série de coupes transversales effectuées à l'aide d'une lame de rasoir, à défaut de microtome, au niveau de la racine, de la tige et de la feuille fournissent une vue d'ensemble sur la structure de l'organe, la position et l'importance respective des tissus ; elles sont placées ensuite dans des verres de montre contenant de l'eau distillée. Les plus fines sont alors sélectionnées pour la coloration.

Le principe de coloration des coupes levées repose sur les étapes suivantes ou on utilise la technique de la double coloration au Carmin – Vert de méthyle qui consiste en :

- Les coupes sont plongées avant toute coloration, dans un bain d'hypochlorite de sodium à 12% pendant un quart d'heure pour éviter le contenu des cellules.

- Rinçage soigneux des coupes, en les faisant passer successivement dans trois verres de montres contenant de l'eau distillée afin d'éliminer toutes traces d'hypochlorite de sodium ;
- Immersion dans l'acide acétique à 2% pendant cinq minutes afin de fixer éventuellement les colorants sur les cellules et enlever toute trace d'hypochlorite de sodium.
- Rinçage sommaire à l'eau distillée.
- Coloration au Vert de méthyle pendant 2 à 3 minutes ;
- Rinçage répété à l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant ;
- Coloration au Carmin aluné pendant 10 à 15 minutes
- Rinçage à l'eau distillée, puis choix des coupes les plus fines, à insérer entre lame et lamelle à l'aide d'une pince, sans oublier de les immerger dans une goutte d'eau et enfin les observer au microscope optique de type LUMENLAB.

Les meilleures coupes observées ont été prises en photos grâce à un appareil photographique monté sur un microscope de type FUJIFILM modèle FinePix JV200 .

2.2- Analyses des échantillons de sols et de plantes

2.2.1- Analyses du sol

2.2.1.1-Caractéristiques physico chimiques

Toutes les analyses de sol ont été effectuées selon les procédures classiques courantes de notre laboratoire.

Le pH (H₂O) : mesuré à l'aide d'un pH-mètre à électrode de verre dans une suspension. 1 / 2.5 (1 volume de sol pour 2.5 volume d'eau).

Granulométrie : détermination des différentes fractions qui constituent un échantillon de sol (terre fine, diamètre inférieur à 2mm). Les fractions de sable (0.05-2mm) sont obtenues par tamisage. Les fractions argileuses et limoneuses sont déterminées par sédimentation en appliquant la loi de Stokes.

Matière organique : Détermination de la matière organique par incinération : méthode de perte au feu (PAF)

La conductivité électrique : déterminée à l'aide d'un conductimètre à 25 C° avec un rapport sol/eau (1/2.5).

Les caractéristiques physico-chimiques du sol ont été effectuées en utilisant des méthodes standardisées cité dans (Wilke, 2005)

La méthode pour déterminer les teneurs totales en Fe, Mg, Ca, K, P, Si et Al dans le sol par spectrométrie à fluorescence de rayons X, XRF (X-ray fluorescence de type CubiX XRF / PANalytical) a été appliquée pour l'analyse des échantillons de sol. (Bachmann et al, 2009)

2.2.1.2- Minéralisation, extraction et dosage des métaux lourds

Peser dans un erlenmeyer rodé de 250ml, 1 g de l'échantillon préalablement séché (16heures à 105°C) et broyé. Ajouter 1 ml de HNO₃ et 3ml d'HCl concentrés. Fixer sous réfrigérant et chauffer jusqu'à ébullition. Maintenir l'ébullition durant 15 mn. Après refroidissement et rinçage du réfrigérant par quelques ml d'eau déminéralisée, filtrer le contenu de l'erlenmeyer sur filtre en papier à vitesse moyenne ou sur une membrane de type Millipore dans un ballon jaugé de 50 à 100 ml selon les besoins. Rincer plusieurs fois le résidu insoluble retenu sur le filtre par quelques ml d'eau déminéralisée ; amener à volume. Selon ses auteurs, cette technique a été testée avec succès dans divers milieux (sols, sédiments, particules atmosphériques) pour les éléments suivants : As ; Cd ; Cr ; Cu ; Mn ; Ni ; Pb ; Sb et Zn. (Hoeing et al , 1979 ;Hseu, 2004) .

Le dosage des métaux est réalisé par la spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme (SAAF). Cette méthode est appliquée pour le sol, les sédiments et pour le matériel biologique. Le principe de la spectrophotométrie d'absorption atomique est détaillé en **annexe 2**.

2.2.2- Extraction et analyses spécifiques des métaux lourds dans les plantes :

Digestion sulfo-nitrique- eau oxygénée (selon Hoeing et al, 1979 ; Hseu , 2004)).

Peser dans un erlenmeyer rodé de 250ml, 1 g de l'échantillon préalablement séché (16heures à 105°C) et broyé. Placer sous réfrigérant et introduire par le haut de celui-ci 1 ml d'acide sulfurique concentré, 3 ml d'acide nitrique concentré et 3 ml d'eau oxygénée à 30%. Porter doucement à ébullition en contrôlant la formation possible de mousse ; maintenir en ébullition douce durant 15 mn. Après refroidissement et rinçage du réfrigérant par quelques ml d'eau déminéralisée, filtrer le contenu de l'erlenmeyer sur filtre en papier à vitesse moyenne ou sur une membrane de type Millipore dans un ballon jaugé de 50 à 100 ml selon les besoins. Rincer plusieurs fois le résidu insoluble retenu sur le filtre par quelques ml d'eau déminéralisée ; amener à volume. Selon ses auteurs, cette technique a été testée avec succès dans divers milieux

(sols, sédiments, particules atmosphériques) pour les éléments suivants : As ; Cd ; Co ;Cr ; Cu ; Mn ; Ni ; Pb ; Sb et Zn.

Selon (EPA, 1995) et (Lancaster and Keller-McNultyPour, 1998), Pour réduire le nombre d'analyses et des coûts relatifs, la concentration de Ni a été déterminée sur un échantillon composite obtenu par mélanger trois répétitions pour chaque partie de la plante (tiges, feuilles et racines).

La concentration du métal dans l'échantillon est calculée selon la formule :

$$C = \frac{V * C_1}{p}$$

C : Concentration du métal de l'échantillon en mg/kg

C1 : Concentration de la solution échantillon en mg/l

V : Volume final de la solution de minéralisation en ml

P : Masse de l'échantillon en g

2.3- Formules pour le calcul des facteurs d'accumulation et translocation

La capacité des plantes à extraire ou à stabiliser les métaux dans le sol peut être déterminée en utilisant trois facteurs :

BF (facteur de bioaccumulation), BCF (facteur de bioconcentration) et TF (facteur de translocation).

Le Facteur de bio-accumulation (BF), définie comme étant le rapport de la concentration en métal dans la biomasse aérienne à la concentration en métal dans le sol.

BCF a été défini comme étant le rapport de la concentration des métaux dans les racines des plantes au métal dans le sol, tandis que l'efficacité de la plante à absorber et à transloquer les contaminants métalliques par les racines dans la tige et les feuilles a été évaluée par le facteur de translocation (FT).

Le facteur de bioaccumulation (BF), le facteur de bioconcentration (FBC), et le facteur de translocation (TF) ont été calculés comme suit (Bonanno, 2012; Korzeniowska et al, 2015):

$$BCF = \frac{[Ni]_{racine}}{[Ni]_{sol; solution}},$$

$$BF = \frac{[Ni]_{partie\ a\erienne}}{[Ni]_{sol; solution}}$$

$$TF_{stem} = \frac{[Ni]_{tige}}{[Ni]_{racine}}$$

$$TF_{leaves} = \frac{[Ni]_{feuilles}}{[Ni]_{racine}}$$

Les concentrations [Ni] sont en (mg.kg⁻¹ de MS : matière sèche)

2.4-Histométrie

L'étude histométrique faite au niveau des tiges et des racines de l'*Arundo donax* L. afin de mesurer les tissus observés sous microscope optique.

La mesure des dimensions des différentes structures des tissus est réalisée à l'aide d'un microscope optique et du logiciel **Mesurim Pro**[®] (version 3.3 pour W9x. XP) qui est un programme informatique gratuit qui permet de faire principalement trois types de travaux: retouche d'image, extraction d'un dessin d'après une image, et mesures de la longueur et de la surface d'une image (plus de détail en annexe).

Le traitement statistique des mesures des différents tissus de la tige et de la racine (équation de régression et coefficients de corrélations de Pearson) a été faite avec Excel 2010.

Les corrélations étudiées entre les éléments de tissus mesurés permettent de déterminer dans quelle mesure les valeurs des deux tissus sont "proportionnelles" les unes aux autres et d'étudier l'intensité de la liaison qui peut exister entre ces éléments.

Les corrélations étudiées entre les éléments de tissus mesurés sont :

- ✓ **au niveau de la tige**
 - Epiderme/ Parenchyme cortical
 - Epiderme/ Sclérenchyme
 - Sclérenchyme /Faisceaux criblo-vasculaires
 - Sclérenchyme /écorce
 - Sclérenchyme / Parenchyme cortical

✓ **au niveau de la racine**

- Moelle/Parenchyme lacuneux
- Moelle/écorce
- Moelle/cylindre central
- Parenchyme lacuneux/écorce
- Parenchyme lacuneux/cylindre central
- écorce/cylindre central
- V. de métaxylème/V. de protoxylème

3- Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du Macro Real Statstics sur Microsoft Office Excel 2010.

Les données présentées sous forme de graphiques, histogrammes ou de tableaux sont les moyennes et les erreurs standards. Une analyse de la variance (ANOVA) est réalisée, suivi d'un test de comparaisons de Student.



Chapitre V :

Résultats et discussions



1- Résultats

1.1-Propriétés physico-chimiques du sol

Les propriétés physico-chimiques du sol sont récapitulées dans le Tableau V.10 et mettent en évidence que le sol est principalement composé de sable et de limon avec une texture sablo-limoneuse, un pH de 7.9, un taux de matière organique faible ne dépassant pas 1.42% assez caractéristique des sols du tell algérien.

Tableau V.10. Propriétés physico-chimiques du sol

Physico-chimique		Minéraux %	
Argile %	2.33	SiO ₂	75.47
Lime %	18.14	Al ₂ O ₃	11.63
Sable %	79.53	Fe ₂ O ₃	4.92
pH	7.92	K ₂ O	2.12
Matière Organique (%)	1.42	CaO	1.2
Conductivité (mScm ⁻¹)	68.7	MgO	0.64
Texture	limon Sableux		

1.2- Évaluation du potentiel de *Zea mays* L. lors de la phytoépuration assistée par EDTA des eaux contaminées par le Nickel : culture Hydroponique

L'objectif de cette expérience est d'étudier le pouvoir d'accumulation du Ni de la plante modèle retenue qu'est *Zea mays* L. au cours de son développement hors sol en absence et en présence du chélateur EDTA à deux niveau C₁=0.265 g/l et C₂=0.53g/l

Les paramètres morphologiques retenues que sont la longueur des racines, la hauteur de la tige principale et la biomasse sèche et fraîche sont mesurés en fin d'expérience et constituent des indicateurs très intéressants.

Les effets de l'application du chélateur EDTA sur le développement de *Zea mays* L. sont vérifiés ainsi que sur l'accumulation du Nickel en fonction de la concentration appliquée.

1.2.1- Effet du nickel sur les paramètres morphologiques du *Zea mays* L.

Après Cinq semaines de culture, les paramètres de croissance des plantes, ont été étudiés à partir de prélèvements effectués à la fin de l'expérience. Les résultats obtenus (figures V.25, 26 et 27) illustrent les paramètres de croissance, comme la longueur des racines, la hauteurs des tiges et la biomasse dans les trois traitements, Ni, Ni+ EDTA $_{0.265\text{mg/l}}$ et Ni+ EDTA $_{0.53\text{mg/l}}$.

- **Longueur des racines :** Le but est de comprendre le comportement de cette plante à croissance rapide à travers la réaction de ses parties physiologique et notamment l'allongement racinaire qui est en présence de différentes concentration de Ni et de l'EDTA (figure V.25).

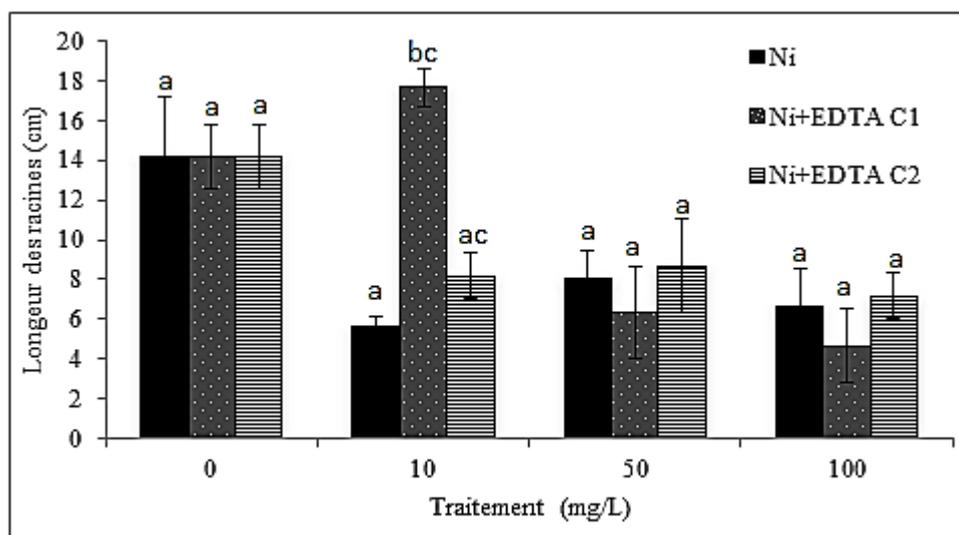


Figure V.25 : Effets des différents traitements de Ni et EDTA sur la longueur moyenne des racines de *Zea mays* L. au cours de son développement hors sol en présence et en absence du chélateur EDTA à deux niveau C1 et C2. Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à $P \leq 0,05$ selon le test t de Student.

Les racines des plantes sont significativement plus développées dans les pots témoins et les pots qui ont reçu une solution de Ni+ EDTA C1 à (10 mg/l) avec un maximum de 17.6 cm. Il n'y a aucune différence significative de croissance des racines entre les plantes soumises aux deux doses de l'EDTA à 10, 50 et 100 mg/l.

Lorsque *Zea mays* L. a été exposée à l'effet du Ni et d'EDTA, la longueur des racines a diminué par rapport au témoin en fonction de la concentration de Ni dans la solution nutritive.

- **Hauteur de la tige :** C'est un autre indicateur permettant de comprendre la réponse de *Zea mays* L., les tiges sont des organes intéressants en matière de phytoremédiation puisqu'elles constituent des réservoirs de stockage des métaux lourds.

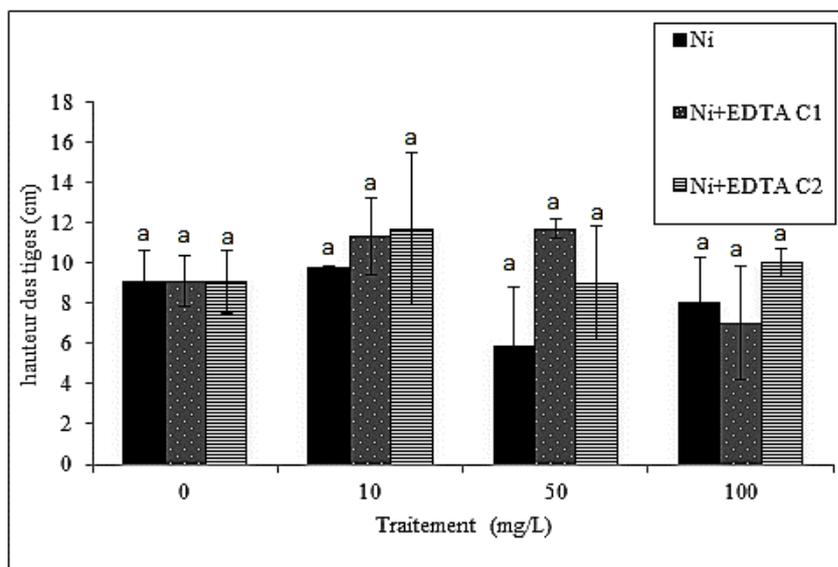


Figure V.26 : Effets des différents traitements de Ni et EDTA sur la Hauteur moyenne des tiges de *Zea mays* L. au cours de son développement hors sol en présence et en absence du chélateur EDTA à deux niveau C1 et C2. Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à $P \leq 0,05$ selon le test t de Student.

En absence de l'EDTA, il n'existe que peu de différences entre la croissance des plantes. Par contre lorsque le sol est pollué au Ni, les plantes présentent une croissance significativement plus importante dans les pots contenant l'EDTA que dans ceux où ils sont absents (figure V.26). Par ailleurs, les plantes ayant poussé en présence de Ni+ EDTA C2, présentent une hauteur de tige plus importante que les plantes cultivées sans EDTA. Concernant l'effet de l'EDTA, il existe aussi une différence significative entre les deux doses, la hauteur la plus élevée étant obtenue avec 10mg/l. Ainsi, la présence du complexant dans le sol témoin stimule la croissance des plantes.

- La biomasse fraîche et sèche :** Elle renseigne sur la production totale de biomasse qui reste un élément déterminant pour l'utilisation de cette espèce en phytoremédiation. En fin d'expérimentation, les parties aériennes et racinaires de la plante sont récoltées séparément, séchées et pesées (Figure V.27).

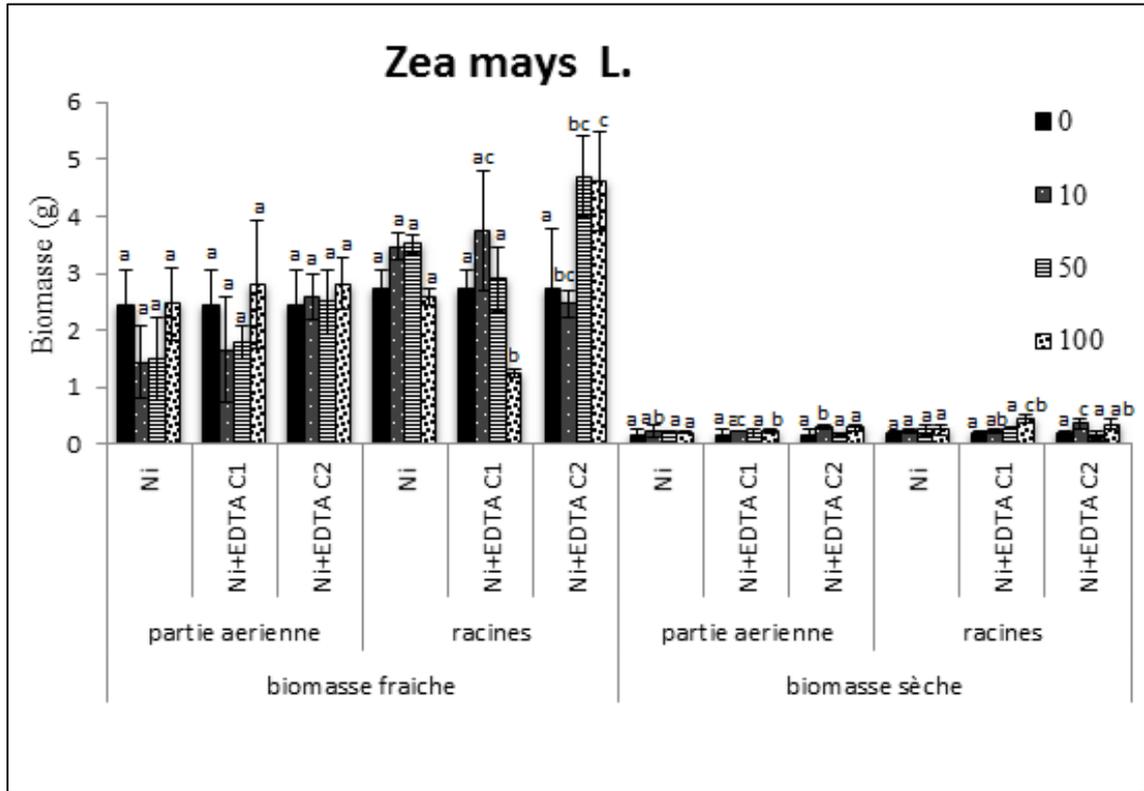


Figure V.27 : Effets des différents traitements de Ni et EDTA sur les biomasses fraîches et sèches de *Zea mays L.* au cours de son développement hors sol en absence et en présence de l'EDTA à deux niveaux C1 et C2. Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à $P \leq 0,05$ selon le test t de Student.

Après 5 semaines, lorsque les plantes arrivent au stade de récolte, la biomasse fraîche la plus élevée de la partie aérienne obtenue à 100mg/l. Par contre c'est la moins élevée dans les racines à la même concentration au traitement Ni et Ni+ EDTA C1.

La biomasse fraîche de la partie aérienne et celle des racines sont significativement plus élevées dans les pots ayant reçu une solution de l'EDTA quelle que soit la concentration (C1 ou C2). La biomasse sèche des racines n'est pas modifiée par les traitements au Ni et EDTA.

1.2.2-Teneurs en Nickel et facteurs de bioaccumulation

1.2.2.1- Teneur en Ni dans la partie aérienne et les racines de *Zea Mays*.

Elle renseigne sur la capacité de la plante à stocker le Nickel

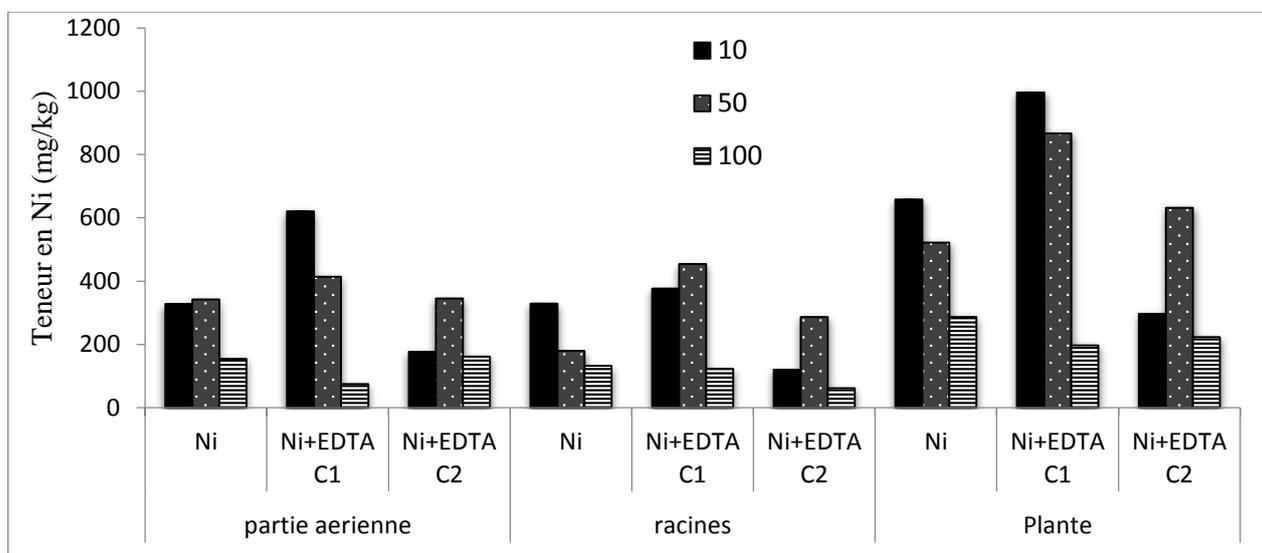


Figure V.28 : Teneur en Ni accumulé en mg/kg de MS dans les différents parties de *Zea mays* L. au cours de son développement hors sol en présence et en absence du chélateur EDTA à deux niveau C1 et C2.

L'accumulation Nickel dépend étroitement de la concentration du métal dans la solution nutritive et de la concentration du complexant EDTA (Figure V.28). En termes de teneur, la partie aérienne accumule plus de nickel que les racines. À 10 mg/l de Nickel, les teneurs maximales du polluant dans la partie aérienne sont estimées à 620mg kg⁻¹ MS, tandis qu'au niveau de la racine, elles ne dépassent pas 377 mg kg⁻¹ MS.

L'application de l'EDTA à 0.265 mg/l entraîne une augmentation significative de la teneur en Ni dans la plante. Cependant, à 100 mg/l de Ni, nous pouvons observer une diminution de l'accumulation.

Quel que soit la concentration C₁ ou C₂, l'EDTA entraîne une diminution des teneurs en Ni dans les racines mais une augmentation dans la partie aérienne.

L'EDTA mobilise de manière importante le Ni, qui est ensuite absorbé massivement puis transféré vers les parties aériennes.

1.2.2.2- Facteurs de bioaccumulation, bioconcentration et translocation :

Afin d'évaluer la capacité de *Zea mays* L. à tolérer et à accumuler le Ni, le coefficient de bioaccumulation ($BF = \text{Concentration du métal dans la partie aérienne de la plante} / \text{Concentrations du métal dans la solution}$), le facteur de bioconcentration ($BCF = \text{Concentration du métal dans les racines} / \text{Concentrations du métal dans la solution}$), et le facteur de translocation ($TF = \text{Concentration du métal dans les feuilles et les tiges} / \text{Concentration du métal dans les racines}$) ont été déterminés et sont présentés dans les figures V.29-31.

- **Facteur de bioconcentration : BCF**

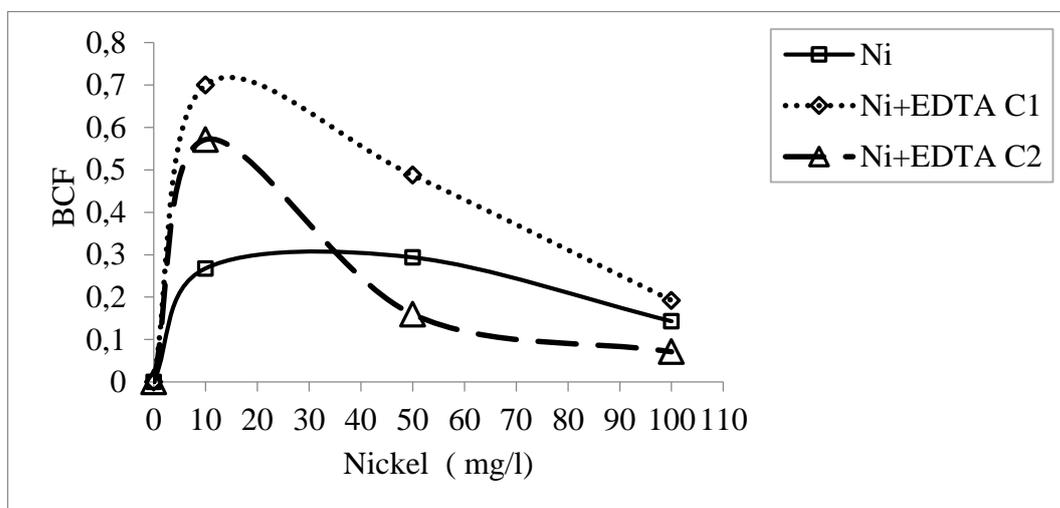


Figure V.29 : Les valeurs du facteur de bioconcentration de *Zea mays* L. sous conditions hydroponiques.

Le facteur de bioconcentration (BCF) renseigne sur la capacité d'une plante à absorber un métal à partir d'un substrat et à l'accumuler dans ses racines. A 10 mg/l, pour les traitements C1 et C2, les FBC de Ni sont plus élevées pour le Ni seul (0,7, 0,57 et 0,26 respectivement) (**Figure V.29**). De même, les valeurs de BCF de Ni pour les traitements Ni+EDTA C1 et Ni, sont plus élevées pour 50 et 100 mg/l que pour le traitement Ni+EDTA C2,. Quel que soit le traitement, il ya une faible accumulation de Ni dans les racines ($BCF < 1$).

A forte concentration de Ni 100 mg/l, les FBC de Ni pour les trois traitement, Ni, Ni+EDTA C1, Ni+EDTA C2, sont les plus faibles (0,14, 0,19 et 0,07) respectivement.

L'accumulation de Ni dans les racines est plus faible lorsque la concentration de l'EDTA et Ni. De plus augmente, les BCF de Ni inférieur à 1 dans les trois traitements montrent que le Nickel est faiblement accumulé dans les racines de Maïs.

Après l'application de l'EDTA, le BCF de Ni augmente dans la même concentration de Ni de la solution nutritive.

D'une part, l'ajout d'EDTA entraîne une diminution des teneurs en Ni dans les racines, et d'autre part, les teneurs en Ni dans la partie aérienne sont augmentés.

- **Facteur de bioaccumulation BF** : L'accumulation d'un élément métallique par une plante est exprimée par le facteur BF.

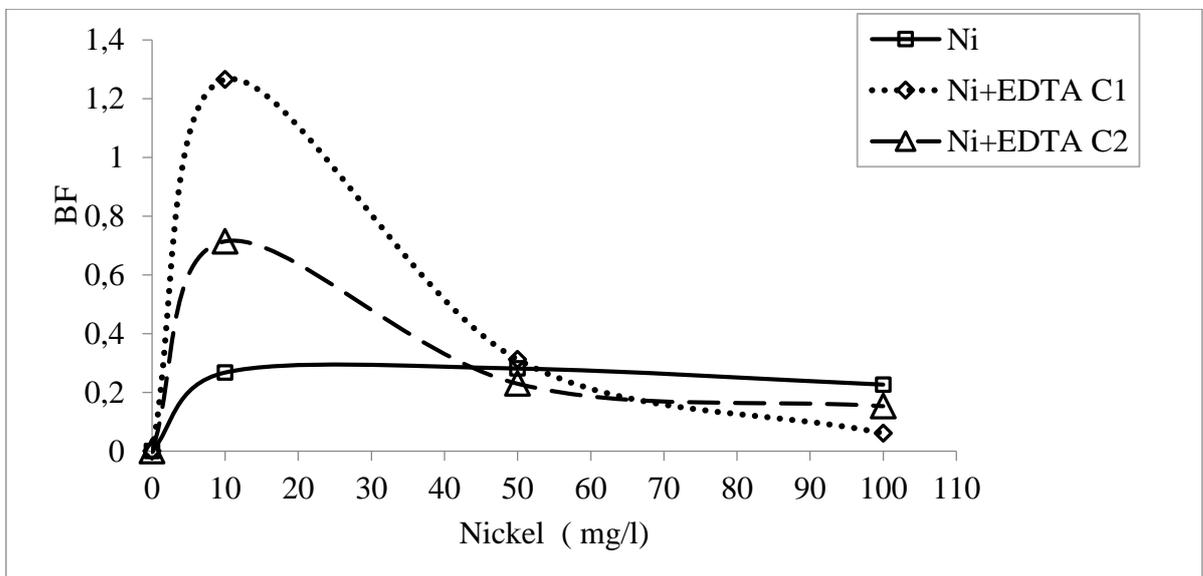


Figure V.30 : Les valeurs du facteur de bioaccumulation de *Zea mays* L. sous conditions hydroponiques.

Les valeurs de BF obtenues pour Ni dans le *Zea mays* L. pour 10 mg/l (0,27, 1,3 et 0,7) sont plus élevées comparées à celles issu du 50 et 100mg/l pour les traitements Ni, Ni+EDTA C1 et Ni+EDTA C2 respectivement.

Toutes les valeurs de BF pour Ni sont inférieures à 1 excepte le traitement Ni+EDTA C1 à faibles concentrations 10 mg/l ; cette plante possède donc une faible capacité pour l'absorption de Ni à partir de la solution nutritive en présence de forte concentration de Ni et de l'EDTA.

Quelle que soit la concentration, d'EDTA entraîne une diminution du BF. Bien que l'ajout d'EDTA à C1 permette d'augmenter les teneurs en Ni dans la partie aérienne, il entraîne une diminution des teneurs en Ni dans les racines. Ainsi, la teneur totale en Ni n'est pas augmentée à 100 mg/l, d'où la diminution du BF.

- **Facteur de translocation TF** : On caractérise aussi la phytoextraction par le facteur de translocation (FT) qu'est utilisé pour évaluer les capacités de phytoextraction des plantes, plus particulièrement leurs capacités à transporter les métaux des racines vers les feuilles et les tiges.

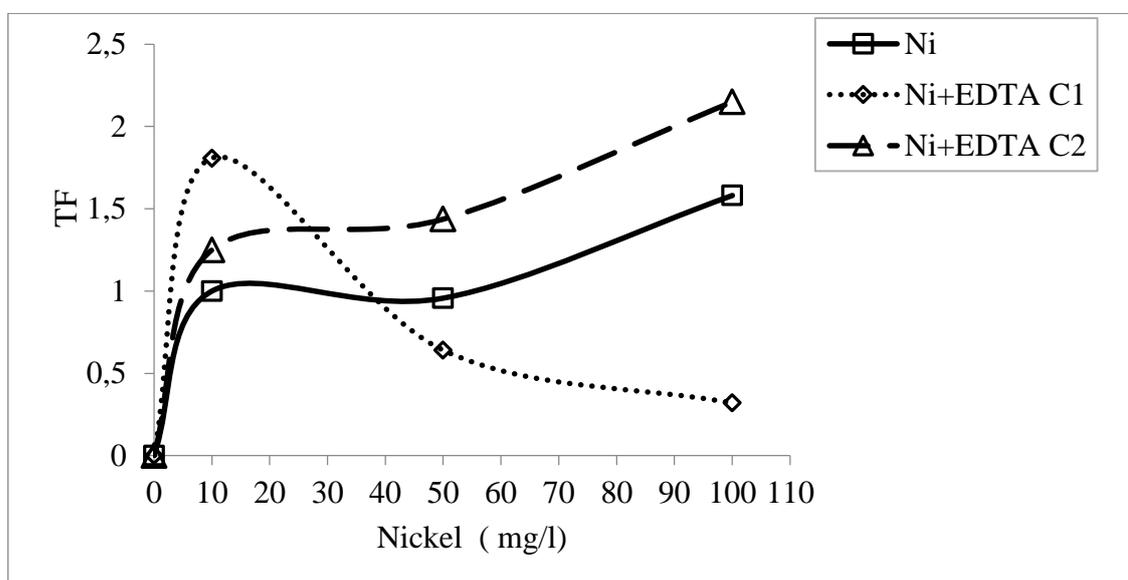


Figure V.31 : Les valeurs du facteur de translocation de *Zea mays* L. sous conditions hydroponiques.

Après l'application de Ni et Ni+EDTA à C2 et quelle que soit la concentration, le TF de Ni est supérieur à celui du traitement l'EDTA à C1. D'une part, l'ajout de l'EDTA à C1 entraîne une augmentation des teneurs en Ni dans les racines, mais d'autre part, il y a une augmentation des teneurs en Ni dans la partie aérienne, d'où la diminution du TF. Par conséquent, à EDTA C1, la teneur en Ni dans les parties aériennes augmente sans permettre une augmentation du TF par rapport aux autres traitements Ni et Ni+EDTA C2 à 50 et 100 mg/l.

A 100 mg/l Ni, le TF de Ni augmente (2.15 pour EDTAC2 et 1.6 pour Ni seul). D'une part, l'ajout d'EDTA à 100 mg/l entraîne une diminution des teneurs en Ni dans la racine, et d'autre part, les teneurs en Ni dans la partie aérienne augmentent pour Ni et Ni+EDTA C2.

Quelle que soit la concentration de Ni appliquée, les traitements Ni et l'EDTA à C₂ entraînent une augmentation du TF. Le TF est en revanche plus important (TF ≥ 1) en raison d'une concentration racinaire beaucoup plus faible.

1.3- Evaluation du potentiel de la phytoremédiation de *Zea Mays L.* d'un sol contaminé par le Nickel

Le *Zea mays L.* est sélectionné comme plante accumulatrice de Ni ayant une croissance rapide et dont les graines sont facilement disponibles à la région de Mascara. Cette plante a été déjà testée en culture hydroponique (Expérience précédente) et pour cette expérience en pot de sols en présence de EDTA et Ni (0, 10, 30, 50, 70 et 100 mg/l). L'absorption du Ni par la plante avec ou sans ajout de EDTA et arrosage par la solution Hoagland est étudiée dans cette partie et fait l'objet d'une publication en cours de rédaction.

1.3.1- Effet de Nickel et EDTA sur la biomasse fraîche et sèche de *Zea mays L.*

Pour le suivi de l'effet de Ni en pots de culture, la biomasse des parties aériennes et racinaires du *Zea mays L.* de chaque traitement est présentée dans la figure V.32.

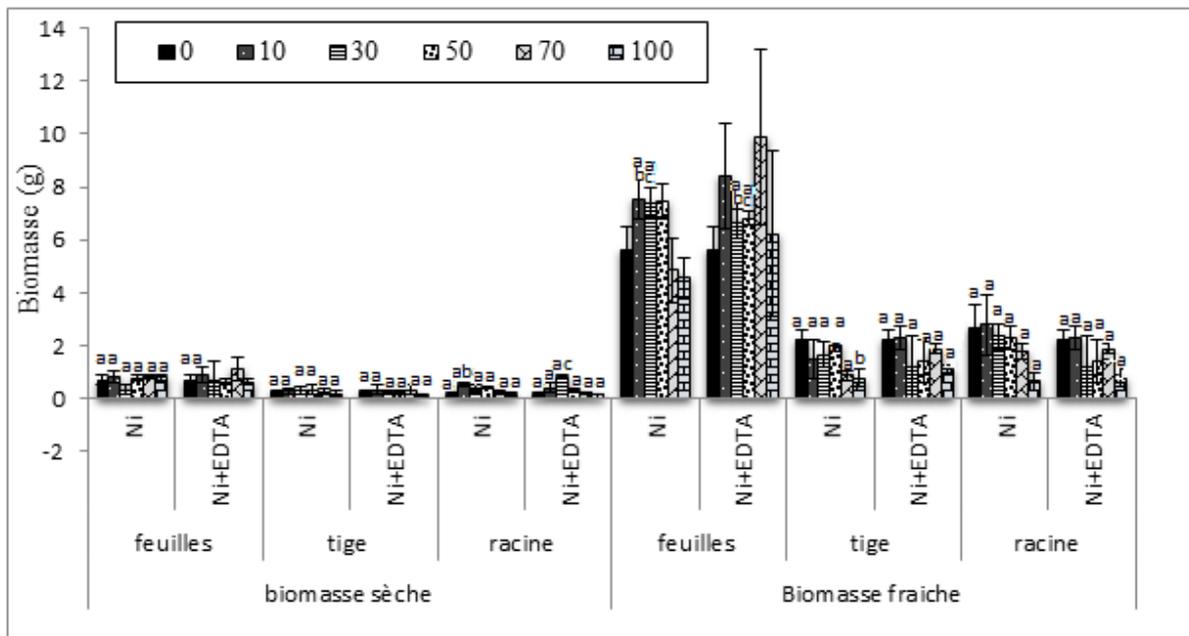


Figure V.32 : Effets des différents traitements de Ni et EDTA sur les biomasses fraîches et sèches de *Zea mays L.* cultivée en sol amendé par solution nutritive de Hoagland. Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à P ≤ 0,05 selon le test t de Student.

Les données de production de biomasse pour chaque traitement et chaque concentration en nickel sont rassemblées dans **la figure V.32**. Les valeurs de biomasse fraîche sont globalement dépendantes de l'ajout de l'EDTA et de la teneur en Nickel.

On remarque en revanche une augmentation de la biomasse fraîche des feuilles de Maïs lorsqu'on compare le témoin. Globalement, on en conclut qu'après 5 semaines de culture, la contamination en Nickel n'a pas d'effet sur la production de biomasse de *Zea mays* L.. En revanche, la biomasse aérienne plus faible à la plus forte concentration en Nickel (100 mg/l), indépendamment de la présence ou non de l'EDTA.

La biomasse des tiges et des racines de *Zea mays* L. en présence de l'EDTA est inférieure à celle de l'autres traitement Ni seul, quelle que soit la concentration de Ni dans le sol. Toutes les plantes n'étaient pas au même stade de croissance à la fin de l'expérience. Quelle que soit la concentration testée en Nickel, *Zea mays* L. présente une plus forte biomasse aérienne, comparée à la biomasse racinaire, ce qui a déjà observé pour la biomasse sèche.

1.3.2- Teneurs en Nickel et facteurs d'accumulation

1.3.2.1- Évaluation de l'absorption et de l'accumulation de Ni chez *Zea mays* L. cultivée en sol amendé par solution nutritive de Hoagland :

La Figure V.33 présente la teneur en Ni dans les différentes parties de *Zea mays* L. après une application de complexant EDTA.

La distribution de Ni, entre les racines et la partie aérienne, chez *Zea mays* L. est la même que celle observée précédemment. En effet, Ni est principalement retrouvé dans la partie aérienne (**Figure V.33**).

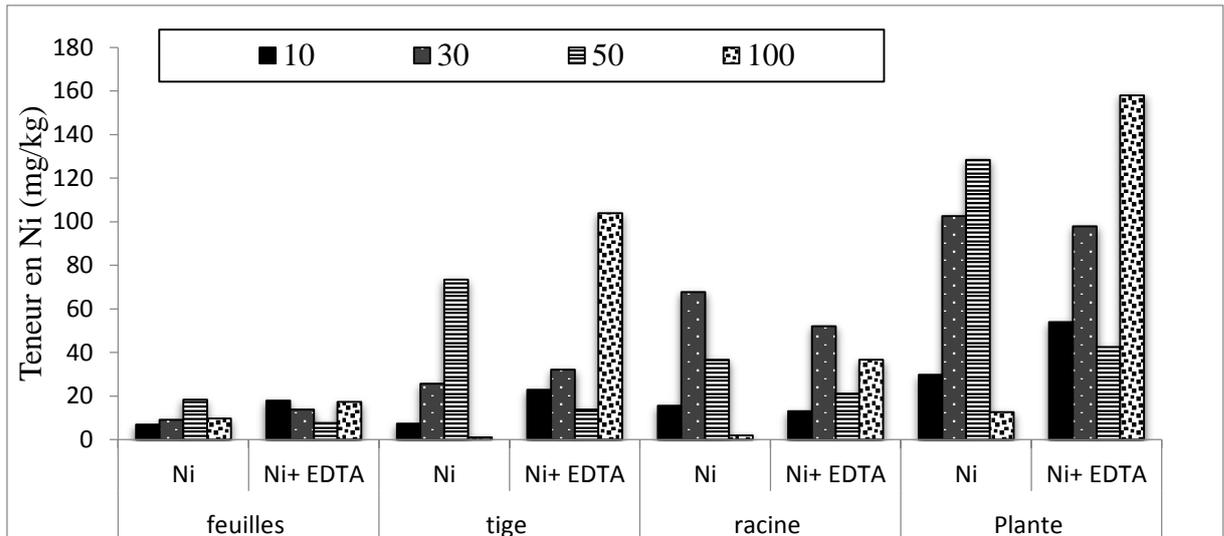


Figure V.33. Effets des différents traitements de Ni et EDTA sur l'accumulation de Nickel

En absence de l'EDTA, les teneurs en nickel des feuilles augmentent avec la concentration en Ni du sol à 10, 30, 50 et 100 mg/l de 6.8 mg/kg MS, 9.17 mg/kg MS, 18.34 mg/kg MS, 9.66 mg/kg MS respectivement. Par contre, l'ajout de l'EDTA entraîne une diminution de Ni dans les feuilles en augmentant la concentration de Ni dans le sol sauf à 100 mg/l, la teneur de Ni est de l'ordre de 17.3 mg/kg MS. Les concentrations minimum et maximum en Ni dans les parties aériennes sont : (10.74, 94.75 mg /Kg MS) et (21.3, 121.4 mg /Kg MS) en absence et en présence de l'EDTA respectivement.

Pour toutes les traitements, la concentration en Ni augmente dans la plante en présence de l'EDTA. Cet accroissement est le plus important quand la contamination excède 100 mg/l.. Dans les racines, les concentrations en Ni à 30 mg/l sont supérieures et comprises entre 51.9 et 67.7 mg /kg MS. L'augmentation de la concentration en Ni dans les racines en fonction de l'exposition est moins forte que dans les feuilles. Le traitement de l'EDTA induit les concentrations en Ni les plus faibles dans les racines. A l'inverse des parties aériennes l'ajout de l'EDTA fait croître la concentration dans les racines en Ni.

1.3.2.2- Facteurs de bioaccumulation, bioconcentration et translocation :

- **Facteur de bioconcentration BCF :** La pénétration d'un élément dans une plante peut être évaluée par le facteur de transfert sol/plante ou également appelé facteur de bioconcentration. La figure V. 34 montre le facteur de bioconcentration : **BCF** du Ni du sol vers les racines.

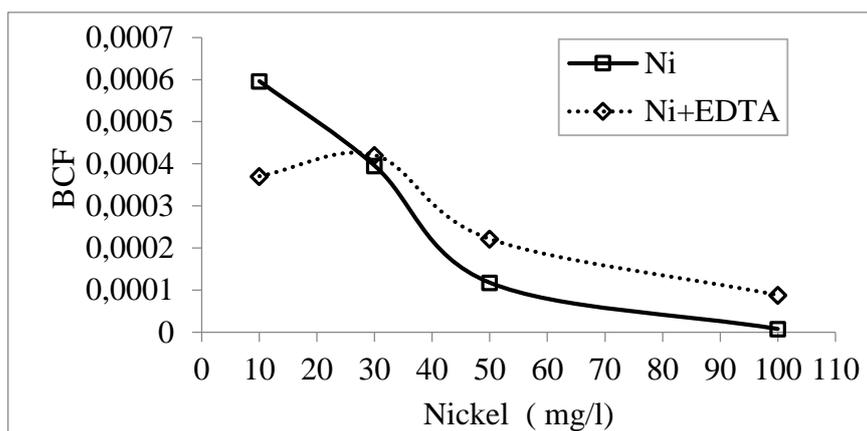


Figure V.34 : Les valeurs du facteur de bioconcentration de *Zea mays L* cultivée en sol amendé par solution nutritive de Hoagland .

Les valeurs sont largement inférieures à 1 pour tous les traitements de Ni et même à l'application de l'EDTA. Les pots les plus contaminés (100 mg/l) présentent les BCFs les plus faibles, et ce pour les 2 expériences Ni et Ni+EDTA. 10 mg/l est la concentration du Ni dans le sol dont les valeurs de BCF sont les plus importantes, avec des BCFs allant de 0,0004 pour Ni à 0,0006 pour Ni+EDTA. Ces résultats permettent de confirmer le fait que le *Zea mays L*. n'est pas une espèce hyper-accumulatrice.

- **Facteur de bioaccumulation BF:** Les facteurs de bioaccumulation correspondent au rapport entre les concentrations en Ni dans la partie aérienne et les concentrations en Ni dans le sol.

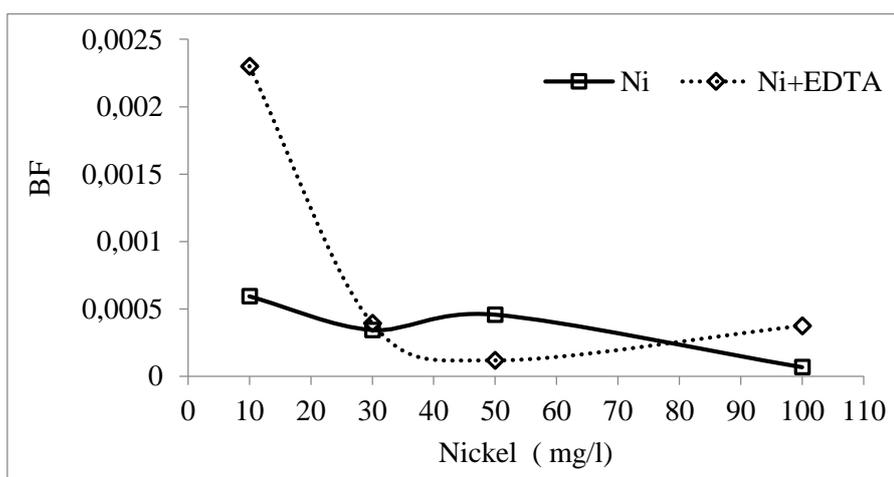


Figure V.35 : Les valeurs du facteur de bioaccumulation de *Zea mays L. L* cultivé en sol amendé par solution nutritive de Hoagland

Les valeurs de ce facteur pour la différente concentration de Ni de chaque traitement sont présentés figure V.35. Les valeurs des BF sont très faibles pour tous les éléments, sauf à 10 mg/l de Ni en présence de l'EDTA, pour lequel la plante présente des valeurs de BF égale à 0.0023 ($BCF \ll 1$), mettant en évidence que le *Zea mays* n'est pas apte à l'hyperaccumulation de Ni dans la partie aérienne et que la capacité de bioaccumulation de la partie aérienne de Maïs n'est pas influencée par le niveau de contamination ni par l'ajout de l'EDTA, et ce, pour les gammes de concentrations de 10 à 100 mg/l.

- **Facteur de translocation TF :** Le facteur de translocation (TF) correspond au rapport de concentration en Ni dans les parties aériennes et dans les racines. Il permet d'étudier la capacité d'une plante à transporter le Ni vers les parties aériennes.

La figure V.36 présente les TFs de Ni des feuilles (a) et des tiges (b) obtenus en fonction de la concentration de Ni dans les sols.

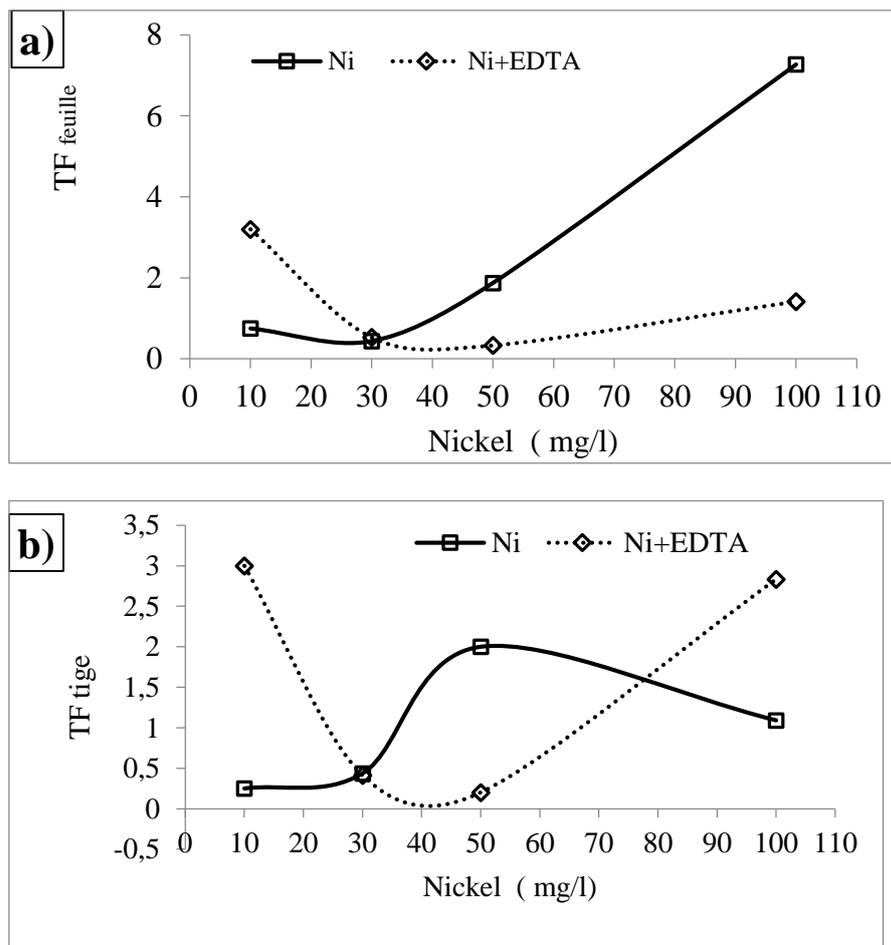


Figure V.36 : Les valeurs du facteur de translocation de *Zea mays* L. cultivé en sol amendé par solution nutritive de Hoagland :a) facteur de translocation des feuilles et b) facteur de translocation des tiges.

Les résultats montrent des facteurs de translocation des feuilles supérieurs à 1 pour les traitements Ni où ils atteignent 1.9, et 7.3 à 50 et 100 mg/l respectivement et à 10 et 30 mg/l de Ni, TF a les valeurs 0.75 et 0.52 respectivement.

Cependant, l'ajout de l'EDTA, diminue fortement et linéairement les TF dès que les concentrations dans le sol augmentent.

Ainsi, les TF des tiges sont inférieurs à 1 pour 10 et 30 mg/l dans les pots traités par Ni et à 30 et 50 mg/l dans le cas où l'EDTA est appliqué. Le Maïs limite le passage de Ni dans les feuilles et les tiges, ce qui est caractéristique des plantes tolérantes accumulatrices mais non hyperaccumulatrices.

1.4. - Évaluation du potentiel de la phytoremédiation de *Arundo donax* L. d'un sol contaminé par le Nickel : Article publiée dans : *International journal of phytoremediation*

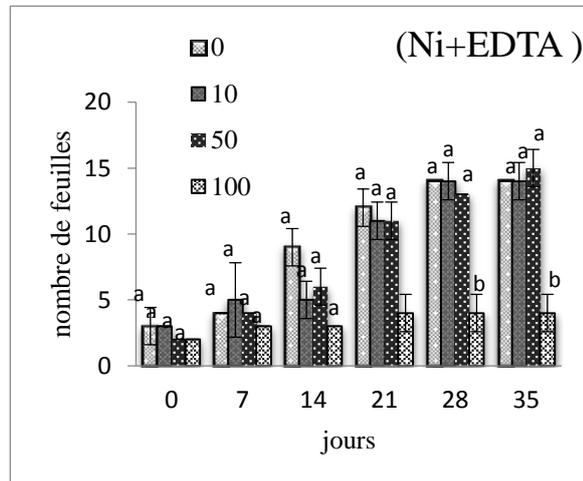
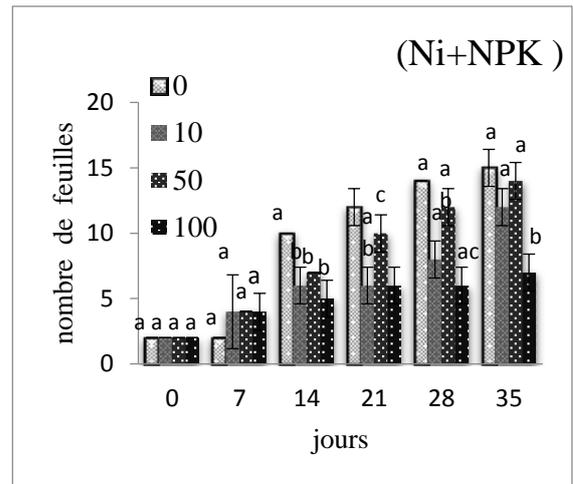
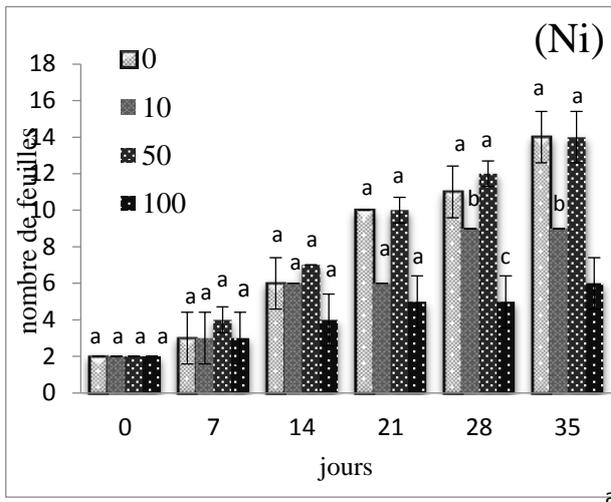
Ce travail a été mené afin d'une part d'étudier des paramètres morphologiques de *l'Arundo donax* L. à la présence de Nickel et d'autre part de déterminer le potentiel de la phytoremédiation de cette plante à dépolluer le sol en présence et en absence de l'EDTA comme agent chélateur et le NPK comme un fertilisant .

1.4.1- Effet du nickel sur les paramètres de la croissance et de la biomasse de *l'Arundo donax* L.

Pendant 35 jours de cette expérience, toutes les plantes de tous les traitements n'ont présenté aucun symptôme toxique.

Les données présentées montrent le nombre de feuilles (figure V.37.a) hauteur de tige (figure V.37.b), diamètre de tige (Figure V.38.a) , la longueur des racines (Figure V.38.b) et la biomasse sèche (Figure V.39) des plantes *Arundo donax* L. cultivées en Sol contaminé par le Ni à des concentrations variées (0, 10, 50 et 100 mg /l) et exposés à différents traitements Ni, Ni + NPK et Ni + EDTA.

(a)



(b)

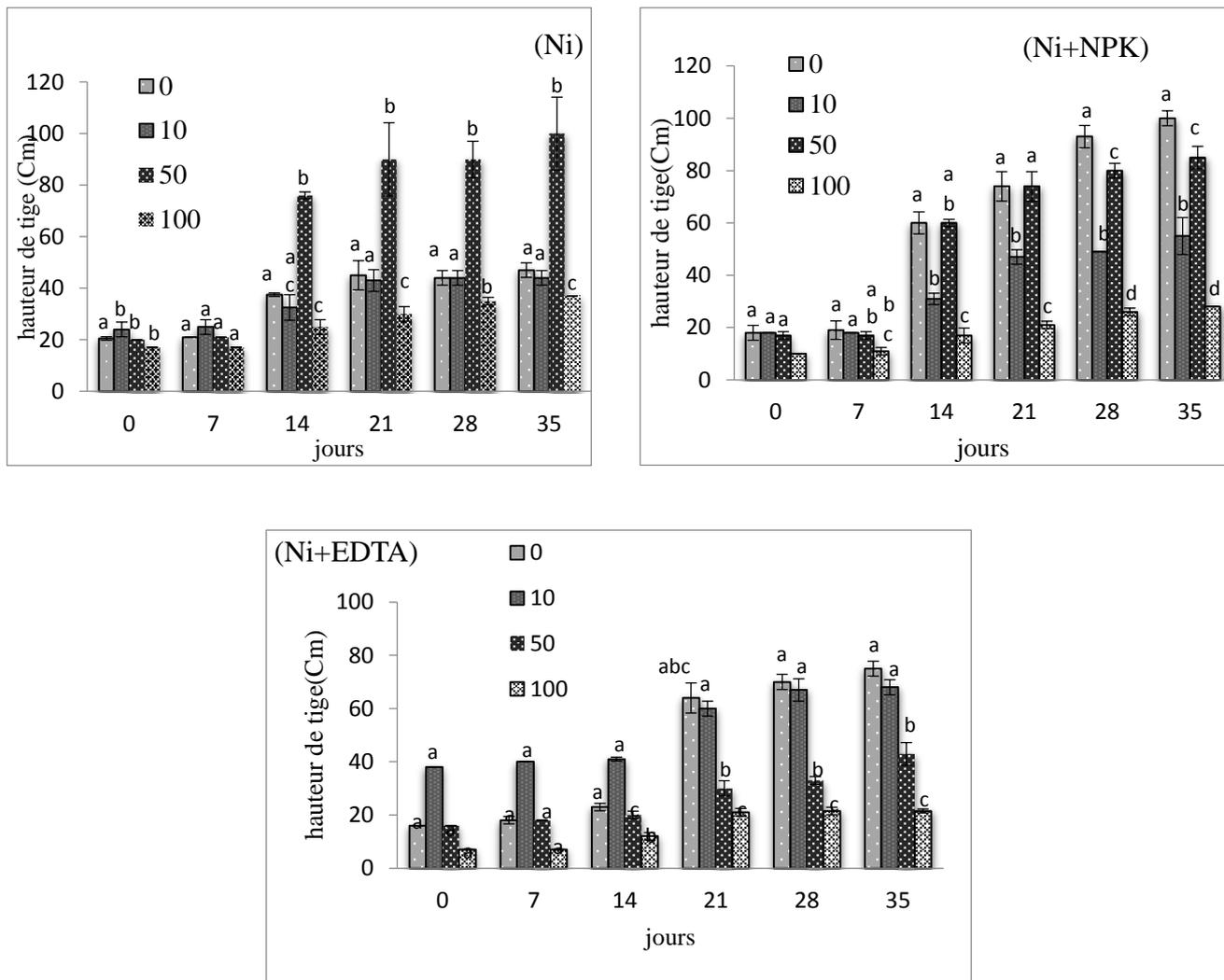


Figure V.37: Effet de différents traitements Ni, Ni + NPK, Ni + EDTA sur le nombre de feuilles (a) et la hauteur de la tige (b). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à $P \leq 0,05$ selon le test t de Student.

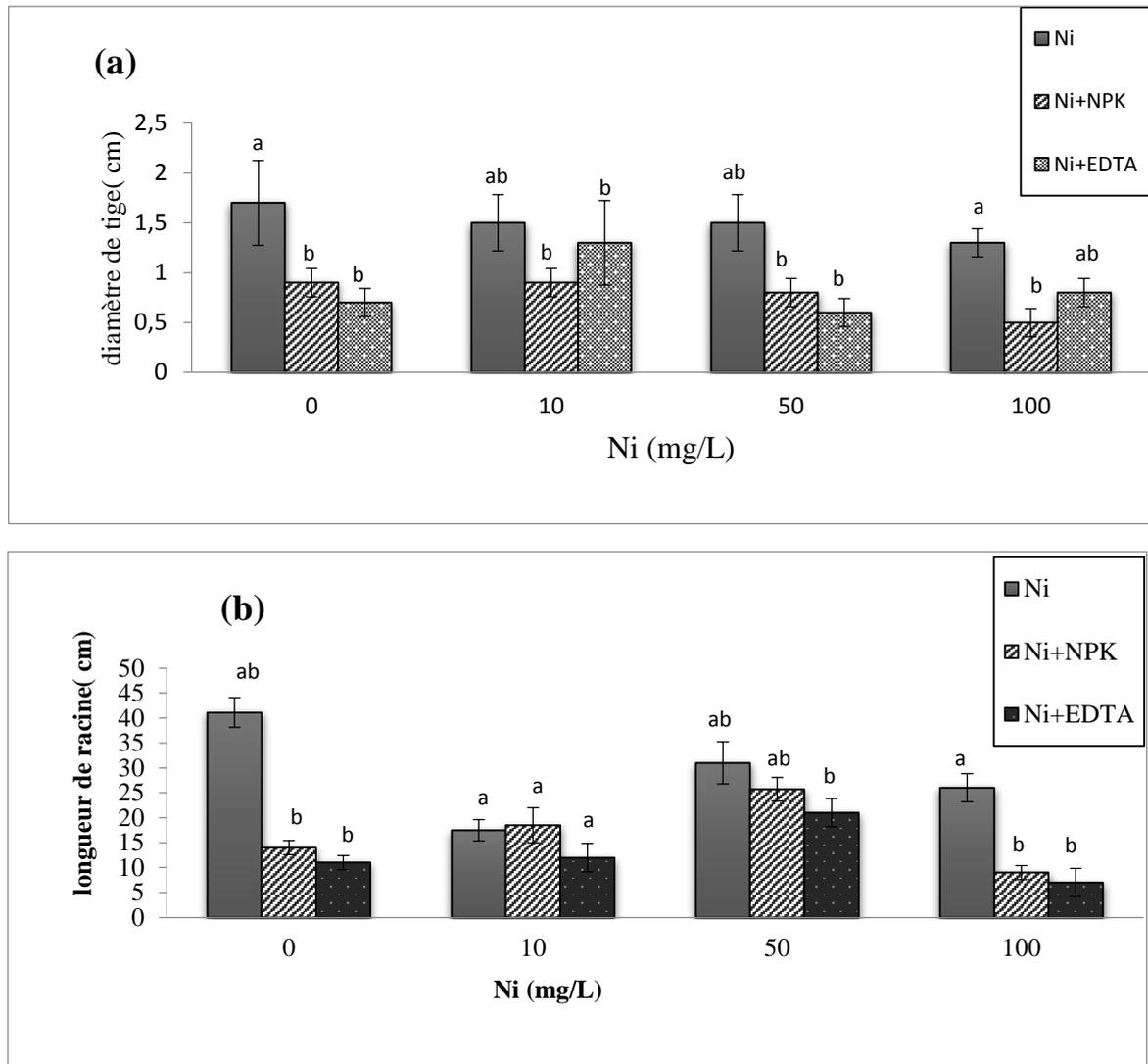


Figure V.38: Effet des différents traitements Ni, Ni+NPK, Ni+EDTA sur le diamètre de la tige (a) et la longueur des racines (b) des plantes. Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à $P \leq 0,05$ selon le test t de Student.

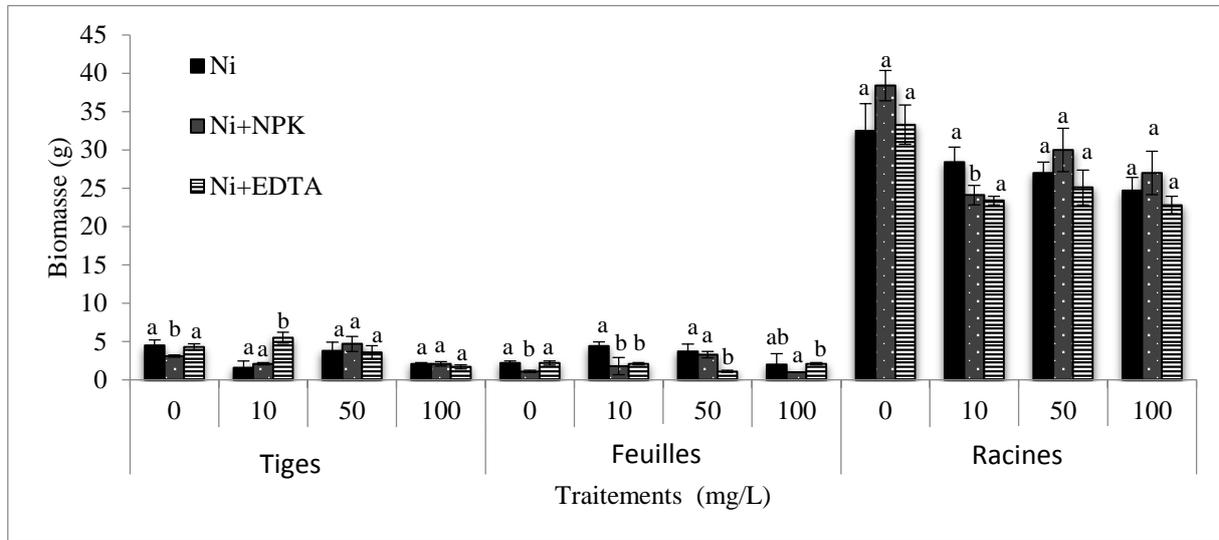


Figure V.39: Les effets des traitements Ni, Ni+NPK, Ni+EDTA sur la biomasse sèche des feuilles, des racines et des tiges. Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à $P \leq 0,05$ selon le test t de Student.

Les résultats obtenus ont montré que les concentrations moyennes de 50 mg / l amélioré la croissance de la plante dans les trois traitements. Toutefois, à des Concentrations en 100 mg / l, la croissance de la plante a été réduite. Le nombre de feuilles significativement influencées par l'ajout de Ni +NPK et Ni + EDTA par rapport au Ni seul.

Les traitements ont un effet significatif élevé sur la tige ($p \leq 0,001$), par rapport au témoin, et significativement augmenté par l'addition de Ni.

Le résultat le plus élevé obtenu est de 90 à 100 cm au traitement de 50 mg / L (figure V.37.b). Le diamètre de la tige de *A. donax* L. (Figure V.38.a) était significativement plus élevé dans les plantes traité par Ni par rapport aux traitements de NPK et de l'EDTA ($p \geq 0,05$) et diminué avec l'augmentation des concentrations de Ni dans le sol. La longueur de la racine (figure V.38.b) était plus faible dans le Ni + EDTA et Ni + NPK que dans le traitement au Ni, bien que cet effet n'ait pas été statistiquement significative ($P \geq 0,05$).

Les résultats ont montré que l'addition d'EDTA et de NPK en présence de Différentes concentrations de Ni, altèrent significativement le poids à sec (Figure V.39) dans les différents organes de plante : racines, tiges et feuilles par rapport à celles cultivées en l'absence du chélateur et de l'engrais pendant 35 jours.

Néanmoins, les valeurs les plus élevées de poids sec sont produites au plantes témoins et aux plante à 50 mg / l pour les traitements Ni et Ni + EDTA dans la tige et la racine. Le poids sec des racines témoin, des plantes soumises à 50 mg / l et à 100 mg / l étaient 28,4, 27,0 et 24,7 g respectivement dans le traitement au Ni qui sont plus élevés en présence de NPK à la même concentration de Ni dans le sol : 38,4, 30 et 27 g respectivement.

Cependant, dans la présente étude, les résultats indiquent qu'il y a eu une réduction de l ,a biomasse en poids sec de plantes *Arundo donax* L. avec une concentration accrue de Ni dans l'EDTA et Traitements NPK.

1.4.2- Teneurs en Nickel et facteurs d'accumulation

1.4.2.1- Evaluation de l'absorption et de l'accumulation de Ni chez *Arundo donax* L . cultivée en sol amendé par l'EDTA et la solution nutritive de NPK

La Figure V.40 (A : Ni, B : Ni+NPK, C : Ni+EDTA) présente la teneur en Ni dans les différentes parties de *Arundo donax* L. après une applications de l' EDTA et du NPK .

Les résultats de l'accumulation de Ni dans les différentes parties des plantes cultivées en sol contaminé sans amendement sont présentés dans (Figure V40.A).

La concentration maximale de Ni dans les racines était de 27, 27 mg / kg MS à 100 mg / L de Ni fournie. Pour les feuilles, l'accumulation de Ni était beaucoup plus élevé que dans la racine et la tige et le maximum de Ni absorbé était dans les feuilles et la tige à 50 mg / L (81,81 mg / /kg MS). Cependant, la concentration de Ni dans la racine était le minimum à 50 mg / L (18,18mg / kg MS). Pour les traitements de 10 à 100 mg / l, le contenu en Nickel dans les feuilles se situe dans la plage de 41,81 à 81,81 mg / kg MS. Les concentrations totales de Ni dans les plantes à 50 mg / L (181, 81 mg / kg MS) étaient supérieures aux traitements de 10 et 100 mg / l (85,45 et 169,06 mg / kg MS). La plante *Arundo donax* L. accumule le Nickel dans divers organes par le schéma suivant : feuille> tige> racine pour les différents traitements.

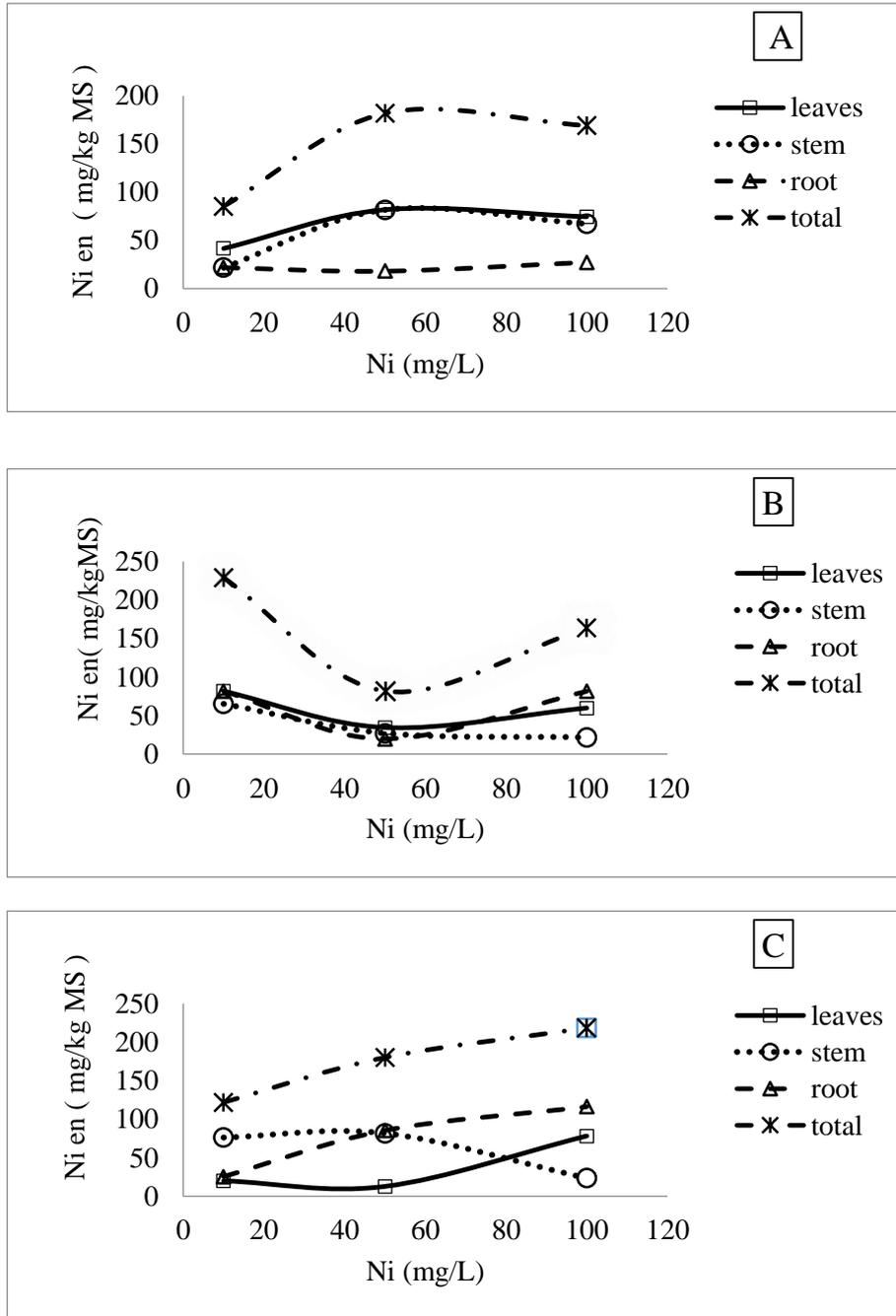


Figure V.40. Nickel concentrations (mg / kg d.w.) in different parts of *Arundo donax* L. plants grown in the Ni (A) , Ni+NPK (B) and Ni+EDTA (C) amended soil.

✓ **Effet de l'engrais NPK sur l'accumulation de Ni**

Les résultats de la concentration de Ni dans les parties de plantes cultivées dans le sol contaminé par Ni et amendé avec l'engrais NPK ont été présentés dans (figure V.40.B).

Pour le Ni (100 mg / L), la concentration maximale de Ni était dans les racines (81,81 mg / kg MS). Dans la tige, la teneur en Ni a diminué en augmentant la concentration de Ni dans le sol. La maximum absorption dans les feuilles s'est produite à 10 mg / L de traitement qui était (81,81 mg / kg MS).

Les teneurs de Ni dans les feuilles sont respectivement de 34,54 et 60 mg / kg pc, aux traitements (50 à 100 mg / L) respectivement. La concentration totale de Ni dans la plante se situe dans la plage de 81,81 à 229,09 mg / kg MS. Contrairement au traitement au Ni sans modification, le schéma d'accumulation de Ni dans divers organes végétaux était la suivante : racine> tige> feuilles.

✓ **L'effet de l'EDTA sur l'accumulation de Ni**

Les résultats de la concentration de Ni dans les différentes parties des plantes cultivées en présence de l'EDTA est présentée dans (Figure V.40.C).

L'accumulation de Ni dans les racines était beaucoup plus élevées que dans la tige et les feuilles. La concentration maximale de Ni dans les racines était de 116,36 mg / kg MS pour une teneur en Ni de 100 mg / L. Dans la tige, l'accumulation maximale de Ni s'est produite à 50 mg / L, ce qui était de 81,81 mg / kg MS. La concentration de Ni dans la tige à 10 mg / L est de 76,36 mg / kg MS.

L'absorption maximale dans les feuilles s'est produite à 100 mg / L de traitement, qui était de 78,18 mg / kg MS.

La concentration de Ni dans la racine augmente avec l'augmentation du Ni dans le sol. Par contre à la tige, l'absorption de Ni a diminué lorsque Ni augmente dans le sol.

Nos résultats montrent une corrélation directe entre la concentration totale de Ni dans la plante pour toutes les solutions d'irrigation avec EDTA. Le modèle d'accumulation de Ni dans divers organes de la plante est le suivant : racine> tige> Feuilles.

1.4.2.2- Facteurs de bioaccumulation, bioconcentration et translocation

• Facteur de translocation TF

On peut évaluer la capacité de translocation des métaux dans les plantes qui estime l'efficacité d'une plante à transférer le métal des racines à la tige et les feuilles pour les plantes cultivées dans le sol contaminé par Ni (Figure V.41.A), avec présence ou non de NPK (figure V.41.B) et d'EDTA (figure V.41.C).

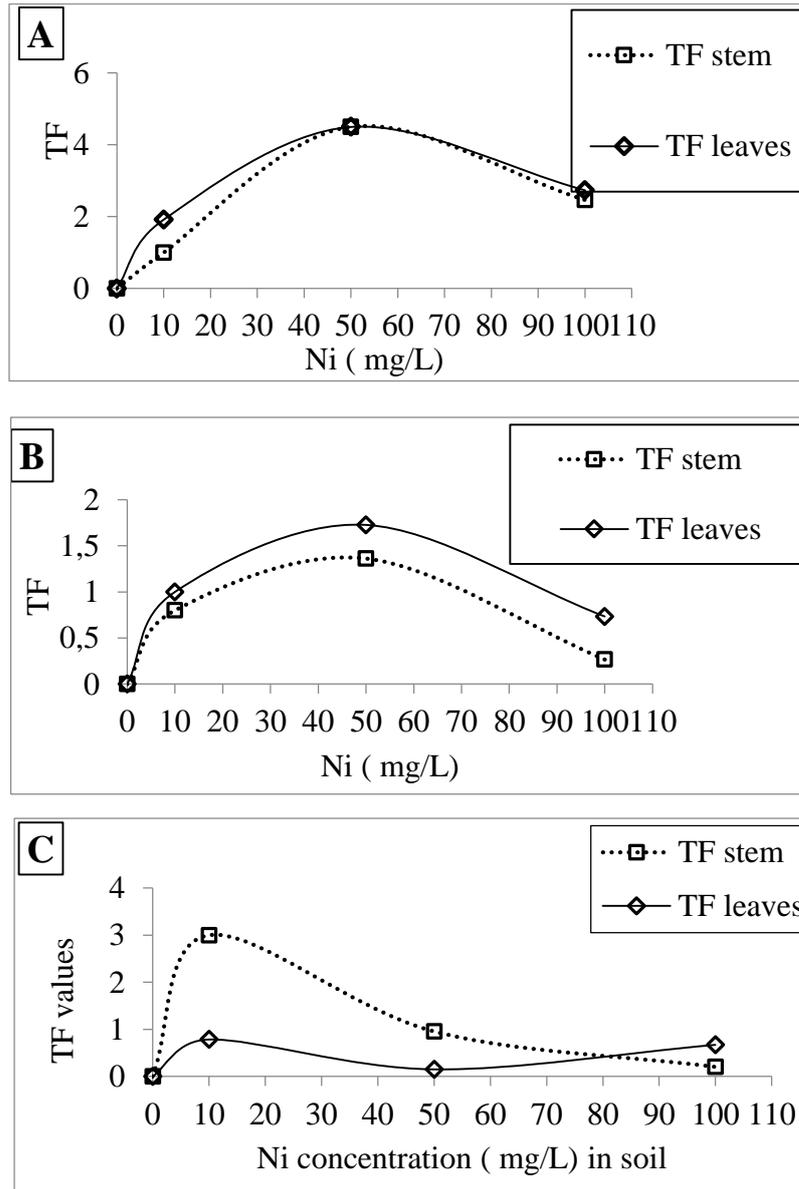


Figure V.41. Les valeurs du facteur de translocation des feuilles et de tige de l'*Arundo donax* L. cultivée en sol traité par Ni (A) Ni+NPK (B) et Ni+EDTA (C).

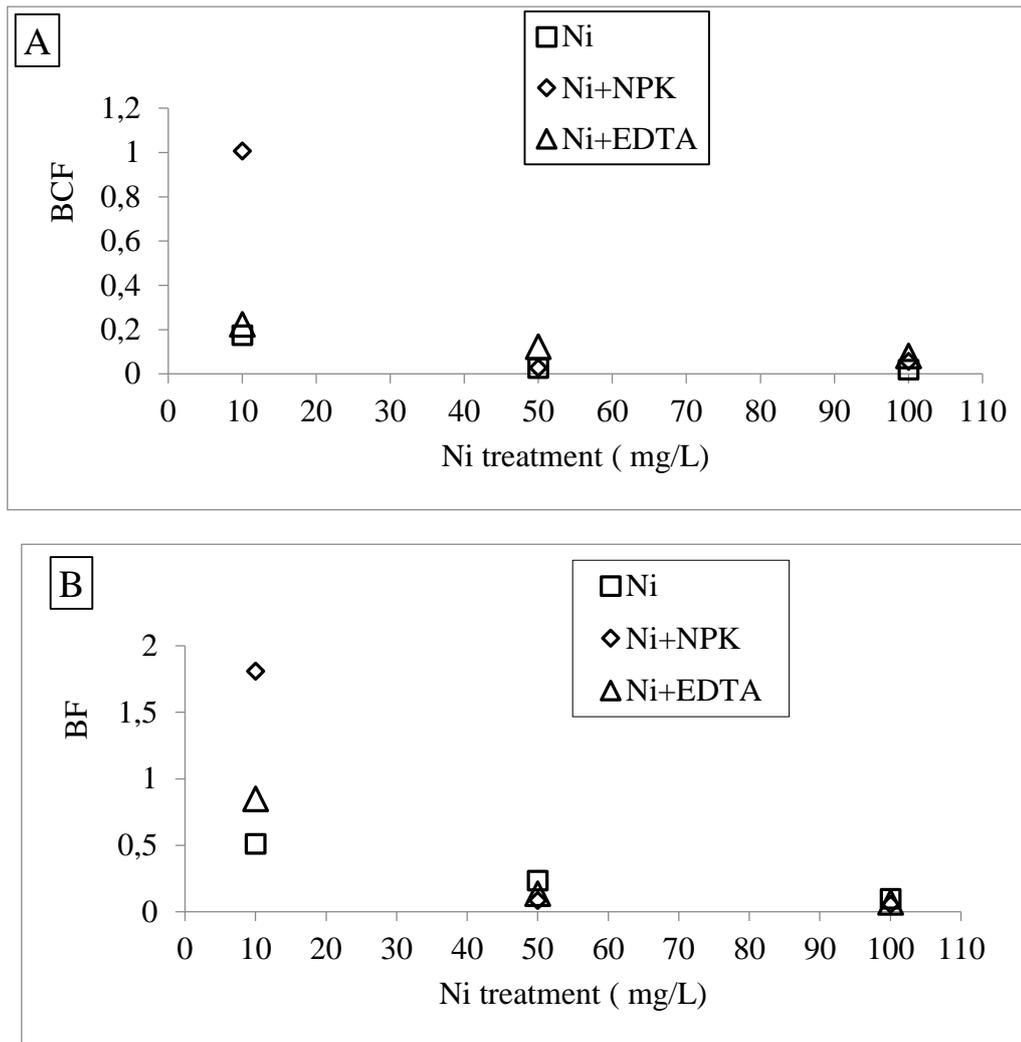


Figure V.42. facteur de Bioconcentration (A) et de bioaccumulation (B) des plantes d'Arundo donax L. cultivée en sol traité par Ni , Ni+NPK , et Ni+EDTA.

Seulement dans l'essai Ni seul, le TF_{tige} et le TF_{feuilles} obtenues pour tous les traitements sont supérieures à un (> 1), le TF augmente de 1 à 4,5, en variant la concentration de Ni fournie de 10 à 50 mg / L, et à 100 mg / L, le TF_{tige} était de 2,47.

Les TF_{tige} et les TF_{feuilles} les plus élevés ont été enregistrées à 50 mg / L avec 4,5 et la valeur la plus basse était $TF_{\text{tige}} = 1$ et $TF_{\text{feuille}} = 1,9$ à 10 mg / L.

Cependant, en présence d'EDTA, toutes les concentrations de Ni (sauf 10 mg / L, $TF_{\text{stem}} = 3$) ont montré un TF_{stem} et $TF_{\text{feuille}} < 1$.

Dans le cas de l'amendement avec le NPK, les valeurs de TF_{tige} et TF_{feuilles} se situaient dans la plage de 0,2 à 1,3 et 0,7 à 1,72 respectivement, pour divers traitements au Ni.

- **Facteur de bioconcentration BCF** : Pour les deux traitements, toutes les valeurs de BCF étaient <1 et étaient à un niveau faible : 0,01 à 0,1 pour le traitement Ni et de 0,08 à 0,2 pour Ni + EDTA, à l'exception d'une élévation de BCF au traitement par NPK à 10 mg / L (BCF = 1,006) (figure V.40.A). BCF n'a pas dépassé une valeur critique de 1, ce qui prouve une très faible capacité de *A. donax L.* à accumuler du Ni dans les parties aériennes. À toutes les expériences, le BCF était inférieure à un (<1) à 100 mg / L. BF et BCF > 1 n'a été obtenu que pour l'application NPK à 10 mg / L. Cependant le Ni , à 50 et 100 mg / L de Ni + EDTA, est accumulé plus efficacement en comparant avec le Ni+NPK et le Ni.

- **Facteur de bioaccumulation BF** : Le facteur de bioaccumulation du nickel, défini comme le rapport de la concentration en métal dans la biomasse aérienne à la concentration en métal dans le sol, a été calculé dans *Arundo donax L.* (Figure V.42.B). Le facteur de bioaccumulation maximal (BF = 1,8) est obtenu dans les plantes traitées avec du NPK à une concentration de 10 mg / L. On observe que le BF diminue avec l'augmentation de Ni dans le sol. Aux trois expériences, le BF est beaucoup plus faible ($\ll 1$) à 100 mg / L.

1.5- Impact des métaux lourds Nickel et cadmium sur les chlorophylles et la croissance des plantes *Helianthus annuus L.*, *Zea Mays L.* et *Arundo donax L.*

1.5.1- Effet du Nickel et du cadmium sur la croissance et les chlorophylles de *Helianthus annuus L.*

1.5.1.1- Effet du Nickel et cadmium sur la biomasse de *Helianthus annuus L.*

Pour mettre en évidence l'effet du nickel et du cadmium sur les plantes soumises aux différentes concentrations et à la présence d'un complexant et une solution nutritive de NPK dans le sol nous avons mesuré la biomasse fraîche et sèche de la plante.

Visuellement on peut remarquer l'effet toxique du nickel à des concentrations de 100 mg/l expliqué par l'inhibition de la croissance des racines en présence de Ni et la chlorose en présence de Cd.

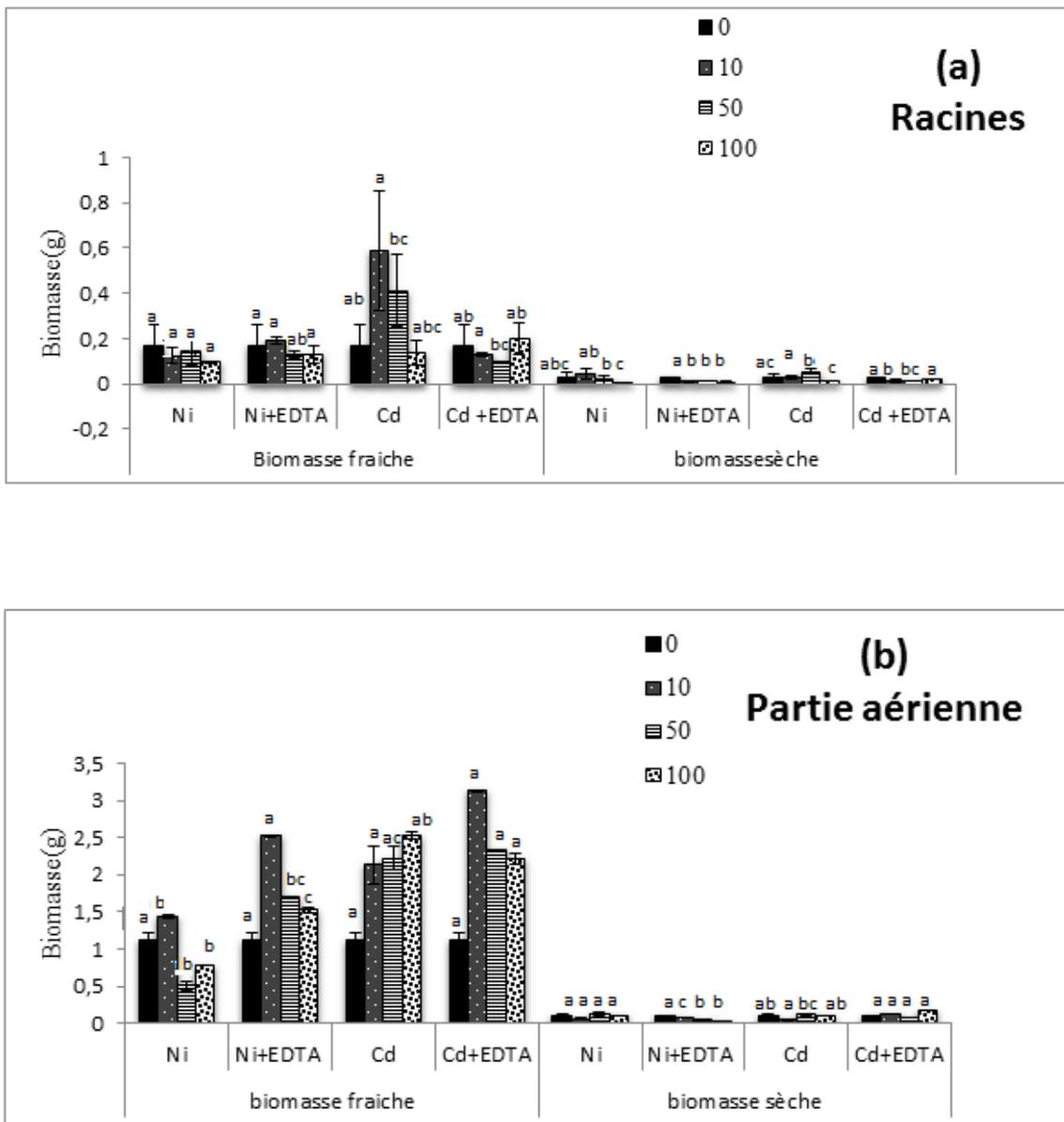


Figure V.43. Effet du Nickel et cadmium sur la biomasse sèche et fraîche des racines (a) et de la partie aérienne (b) de plante : *Helianthus annuus* L.. Les barres d'erreur représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à $P \leq 0,05$ selon le test t de Student.

Les plantes cultivées dans des pots contiennent le Nickel ont des biomasses des parties aériennes fraîches faibles, avec des symptômes de la toxicité au Ni.

Dans notre expérience, les plantes de *Helianthus annuus* L. traitées avec 10 mg/l de Ni et Cd en présence de l'EDTA montrent les biomasses les plus élevées.

La figure V.41. (a et b) représente la variation de la biomasse en matière sèche (MS) des parties racinaires et aériennes de *Helianthus annuus* L. suite aux différents traitements (Ni, Ni+EDTA, Cd, Cd+EDTA). On observe que la biomasse des parties racinaires n'est pas affectée par les traitements, même pour la plus forte concentration de Ni et de Cd.

Dans les parties aériennes, les traitements Ni+EDTA, Cd et Cd+EDTA n'affectent pas la biomasse alors qu'une diminution de celle-ci est observée après un traitement à au nickel seul. Par contre dans la partie racinaire, en présence de l'EDTA, une réduction de la biomasse est observée par rapport au traitement Ni et Cd seul. La matière sèche varie tout-à-fait similaire avec la biomasse fraîche.

Contrairement aux parties racinaires, la biomasse des parties aériennes a tendance à augmenter en présence de Cd et EDTA. On constate que la présence de Cd améliore clairement la biomasse de *Helianthus annuus* L..

En effet, l'ajout du Cd seul dans le milieu de culture améliore la production de la biomasse et l'ajout de Ni seul inhibe la croissance de la plante.

Des faibles concentrations de Cd et de Ni+EDTA agissent positivement sur la croissance et la production de biomasse de *Helianthus annuus* qui semble mieux résister et peut être accumulé le cadmium que le nickel.

En revanche, la présence de Cd et de Ni combinée à l'EDTA augmente la biomasse, surtout aux concentrations (10, 50 et 100 mg/l). Ces valeurs restent toutefois supérieures à celles des témoins.

1.5.1.2- Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de *Helianthus annuus* L.

Afin d'étudier l'effet du nickel et du cadmium de *Helianthus annuus* L. la concentration en pigments chlorophylliens étaient contrôlées. (figure V.44)

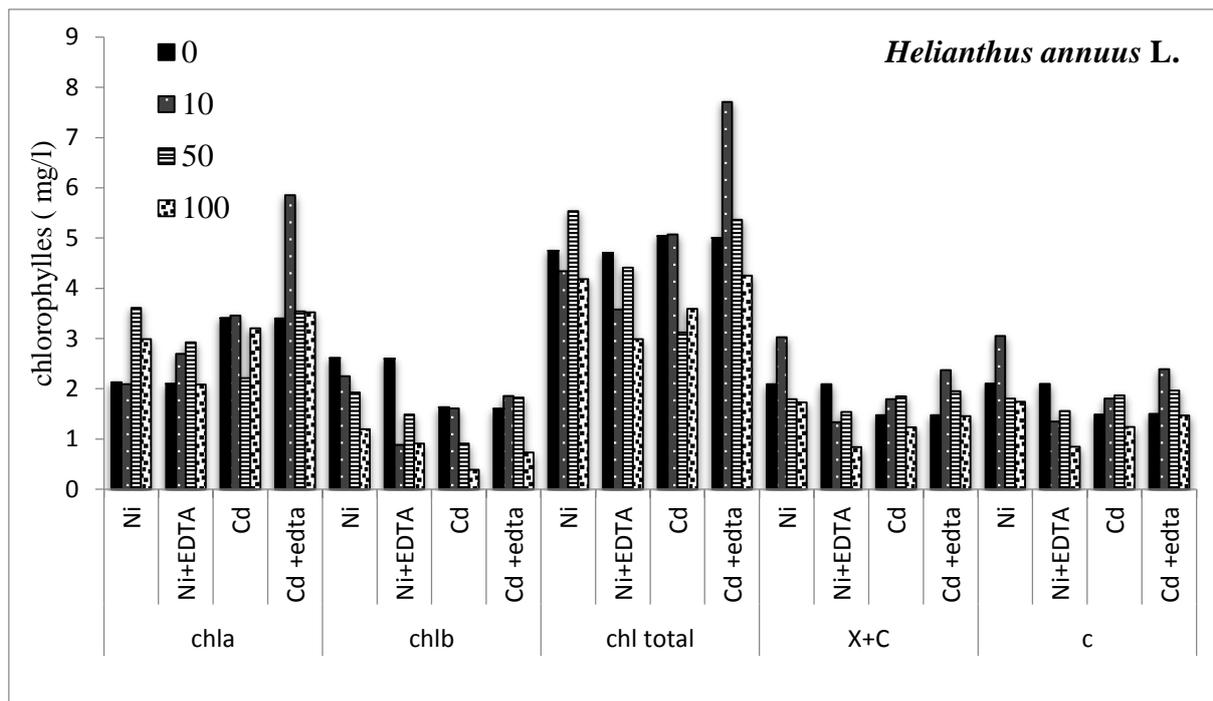


Figure V.44. Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de *Helianthus annuus L.*

Sur la figure V.44 on constate que la concentration de chlorophylle a est plus élevée que celle de la chlorophylle b. Le traitement par le cadmium et le nickel provoque une diminution progressive de Chl b à la plus forte concentration. Cette diminution est aussi observée pour les xanthophylles X + C et les caroténoïdes .

Avec l'ajout du Ni+EDTA on constate que la concentration de chlorophylle a Chla est pratiquement la même que celle des Ni et paraît varier en fonction des différentes concentrations. Il en est de même pour la chlorophylle a+b , X+C et C .

Les résultats montrent que le traitement Ni seul perturbe la teneur en chlorophylles qui diminue en fonction des concentrations croissantes de Ni sauf à 50 mg/l de Ni le chl a et chl b atteignent 3.6 et 5.5 mg/l respectivement .

Par contre, en présence de Cd, les teneurs en Chlorophylle a et b sont moins affectées et cela est visible aussi en présence de l'EDTA .

Il est à noter que quels que soient les traitements et les concentrations appliqués, aucun effet sur la teneur en caroténoïdes C et en xanthophylles X+C n'est observé.

En présence de Cd, nous observons, une baisse très hautement significative en fonction de l'augmentation de la concentration en Cd par rapport aux témoins jusqu'au pour Chlb (0.3 mg/l) à 100mg/l de Cd.

En présence simultanée de Cd et EDTA, une augmentation (5.8 mg/l) à 10 ppm suivi par une diminution à (3.6mg/l) à 50 mg/l et une élévation pour Chl a et Chl b respectivement à 100mg/l. L'examen de la figure montre que le contenu en caroténoïdes dans les feuilles, s'écart étroitement en comparant les deux traitements (Ni, cd) l'un de l'autre, augmente à 10 et 50 mg/l de Ni (3.5, 1.7 mg/l) et de Cd (1.9 , 1.8mg/l) et chute en ajoutant l' EDTA.

Selon la concentration du métal, les feuilles peuvent présenter une chlorose due à la fois à une perte de chlorophylle et à une relative augmentation des caroténoïdes.

1.5.2- Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de *Zea mays* L.

L'effet de Nickel et du Cadmium sur la teneur en pigments chlorophylliens des plantes *Zea mays* L. est présenté dans la figure V.45.

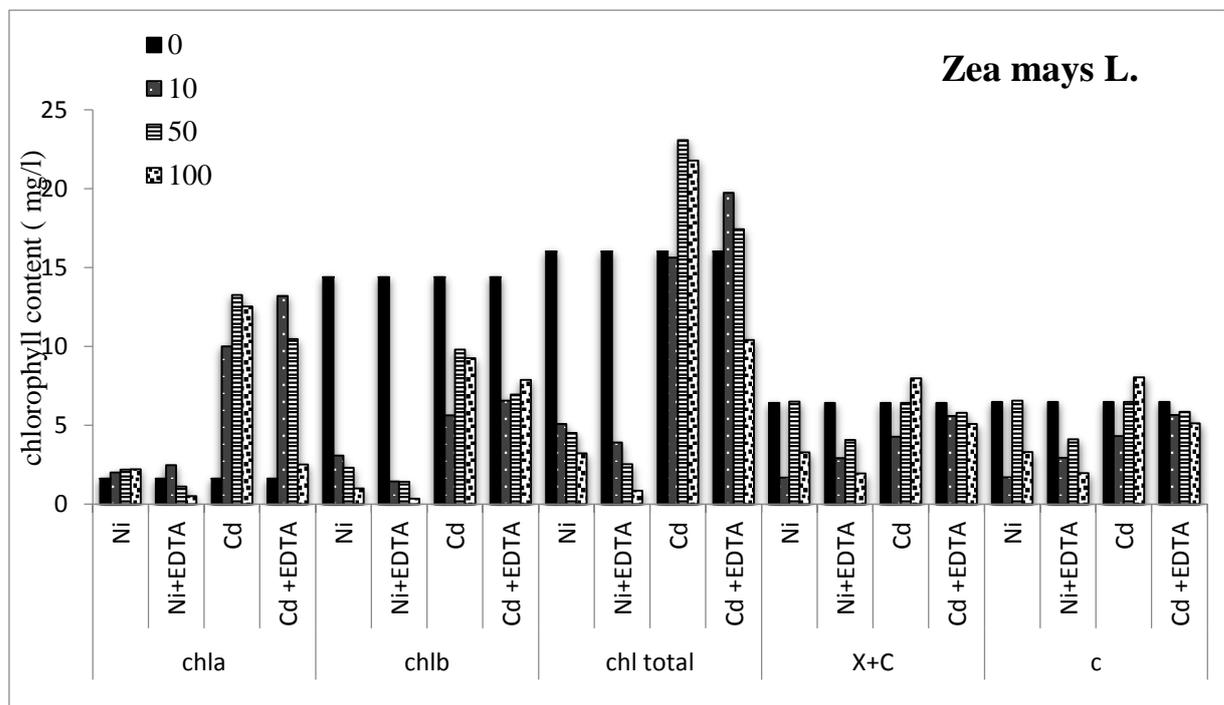


Figure V.45. Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de *Zea mays* L.

À Ni et Ni+EDTA, les teneurs en chlorophylle chla ont été fortement faibles et qui sont identiques au témoin.

Par contre, à Cd et Cd+EDTA les teneurs en chlorophylle chla ont été fortement modifiées, mais elles ont été plus élevées par rapport au témoin.

Le contenu en chlorophylle b en présence de Ni et Ni+EDTA a très diminué par rapport au Chl b du témoin et Chlb en présence du Cd. Ensuite, le contenu de Chla , Chl b et par conséquent Chl total a abaissé en augmentant la concentration du métal.

Le contenu de caroténoïdes et du xanthophylles est demeuré stable, alors que ces teneurs en présence du Cadmium et de l'EDTA a légèrement augmenté .

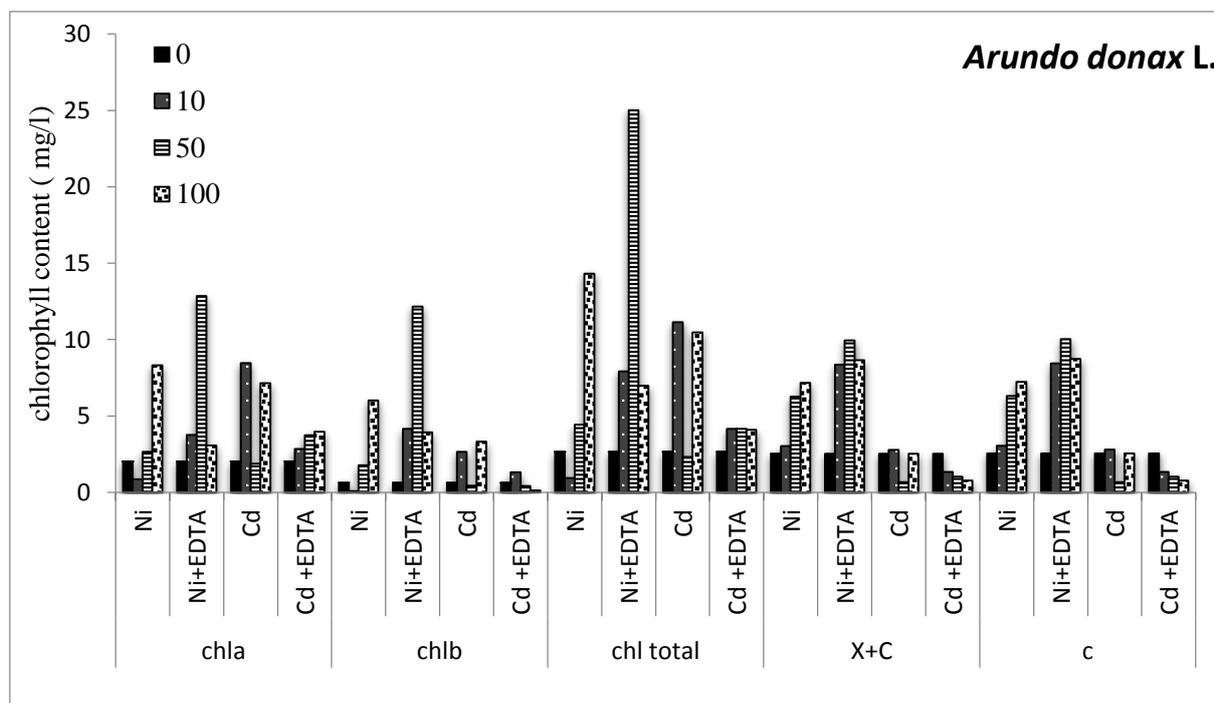
Les teneurs en chlorophylle a, b, totale , caroténoïdes et xanthophyll en absence du polluants (témoins) sont de (1.6, 14.29, 16.09 , 6.41 et 6.47 mg/l) respectivement.

la teneur en chlorophylles en présence de Cd est supérieure que les chlorophylles en présence de Ni, et est inférieur lors de présence simultanée du métal et EDTA.

Les teneurs en pigments chlorophylliens diminuent à la dose 100 mg/l, et augmentent en présence de Cd.

1.5. 3- Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de *Arundo donax* L.

L'effet des traitements Ni, Ni+ EDTA , Cd, Cd +EDTA sur les teneurs moyennes en chlorophylles a et b chlorophylle totale et caroténoïdes au niveau des feuilles des plantes sont représentés dans la FigureV.46



FigureV.46.Effet du Nickel et cadmium sur les chlorophylles de *Arundo donax* L.

Au traitement Cd et Cd+EDTA, les teneurs en chlorophylle chlb, X+C et C ont été fortement faibles et qui sont identiques au témoin.

Par contre, à Ni et Ni+EDTA les teneurs en chlorophylles ont été fortement modifiées, mais elles ont été plus élevées par rapport au témoin.

Le contenu en chlorophylles à 100 mg/l était très élevé par rapport aux autres concentrations et au témoin sauf à Cd + EDTA le Chlb a une très faible valeur (0.1 mg/l).

Ensuite, le contenu de Chla, Chl b et par conséquent Chl total a augmenté en augmentant la concentration du métal. La teneur en chlorophylles en présence de Ni est supérieure que les chlorophylles en présence de Cd, et augmente lors de la présence simultanée du métal et de l'EDTA.

Les teneurs en pigments chlorophylliens diminuent à la dose 100 mg/l, et augmentent en présence de Cd.

Par conséquent, le traitement par le cadmium provoque une diminution progressive de Chl b. Cette diminution est aussi observée pour les xanthophylles X + C et les caroténoïdes.

Avec l'ajout du EDTA on constate que la concentration de chlorophylle a Chla est pratiquement la même que celle des Ni et paraît varier en fonction des différentes concentrations. Il en est de même pour la chlorophylle a+b, X+C et C.

Les résultats montrent que le traitement Cd seul perturbe la teneur en chlorophylles qui diminue en fonction des concentrations croissantes de Cd sauf à 50 et 100 mg/l de Cd le Chla atteint 8.4 et 7.1 mg/l respectivement.

Par contre, en présence de Ni, les teneurs en Chlorophylle a et b sont moins affectées et cela est visible aussi en présence de l'EDTA.

L'examen de la figure montre que le contenu en caroténoïdes dans les feuilles, s'écarte largement en comparant les deux traitements (Ni, Cd) l'un de l'autre, augmente à 10 et 50 mg/l de Ni (6.3, 7.2 mg/l) et de Cd (0.6, 2.5 mg/l) et chute en traitement par Cd et augmente dans le cas de Ni, en ajoutant l'EDTA.

Selon la concentration du métal et la présence de l'EDTA, le Cadmium inhibe les pigments chlorophylliens plus forts que le Nickel.

1.6- Effet du nickel sur la structure histologique des tiges et des racines d'*Arundo donax* L.

La structure anatomique des tiges et des racines est étudiée sur des coupes transversales.

Nous étudierons la structure histologique des plantes témoins qui définit la structure typique de chaque espèce puis les changements liés à l'action du Nickel, de Nickel+NPK et du Nickel + EDTA.

L'observation des coupes transversales de tiges au microscope optique mesurées en μm à l'aide d'un logiciel (Mesurim Pro version 3.3) permis la comparaison des coupes histologiques réalisées au niveau des tiges et des racines des plantes témoins (Figure V.47). et celles des plantes polluée et traitées au NPK et EDTA (Figure V.48). .

1.6.1. Etude histologique de la tige

Sur les coupes transversales, on observe que la tige est constituée de deux zones principales: l'écorce et le cylindre centrale. On peut remarquer, que le cylindre central de la tige occupe une superficie plus élevée que l'écorce (Figure V.47).

On observe que la tige, en allant de l'extérieur vers l'intérieur, est constituée de (Rüggeberg et al, 2010) :

- **L'épiderme** : constitué d'une assise de cellules vivantes juxtaposées de forme ovale dont la paroi extérieure est cutinisée.

-**Le parenchyme cortical**, peu épais, composé de 03 à 04 couches de cellules habituellement celluloses, de forme arrondie, irrégulièrement disposées et sont séparées par des méats, qui constituent le tissu de réserve.

- **Le sclérenchyme** : de petite taille à paroi épaisse constituent les fibres.

- **Tissus conducteurs** : Xylème et phloème accolés et superposés en faisceaux cribro-vasculaires vasculaires et organisés en un seul cercle.

* **Le xylème** : assure essentiellement la circulation jusqu'aux feuilles de la sève brute constituée d'eau et de sels minéraux puisés dans le sol par les racines. Le xylème est constitué de cellules mortes très allongées présentant des parois épaissies par des dépôts de lignine, interrompus par endroit pour permettre le passage de la sève.

Le xylème présente deux types de cellules conductrices de sève :

- tissu possède de grosses cellules "méta-xylème" qui est en fait les vaisseaux de xylème transporteurs de la sève brute. On remarque aussi de petites cellules allongées verticalement.

-Tissus possède des faisceaux de bois (protoxylème), avec des petites cellules angulaires et circulaires caractérisées par une différenciation centripète.

***Le phloème** assure essentiellement la circulation de la sève élaborée, c'est-à-dire la sève enrichie des substances issues de la photosynthèse.

Ce tissu conducteur est constitué de tubes criblés ou ensemble de cellules vivantes allongées possèdent de parois latérales perforées de pores, appelés cribles, permettant le transit de la sève. Ces tubes criblés sont accompagnés de cellules qui participent au contrôle de la circulation de la sève dans les tubes criblés.

- **parenchyme médullaire** : la moelle (ou cylindre central): des cellules arrondies occupant le centre de la tige avec la présence de méats bien visibles.

-**Lacune** médullaire :(moelle abondante) la tige a une symétrie axiale dont le centre est occupé par une grande lacune : la tige est creuse.

La mesure des dimensions des différentes structures des tissus est réalisée à l'aide d'un microscope optique et le logiciel MISURIM PRO (Tableau V.11).

Les corrélations obtenues entre les tissus mesurés vont nous donner une reconnaissance sur les adaptations des tissus observés (Tableau V.12).

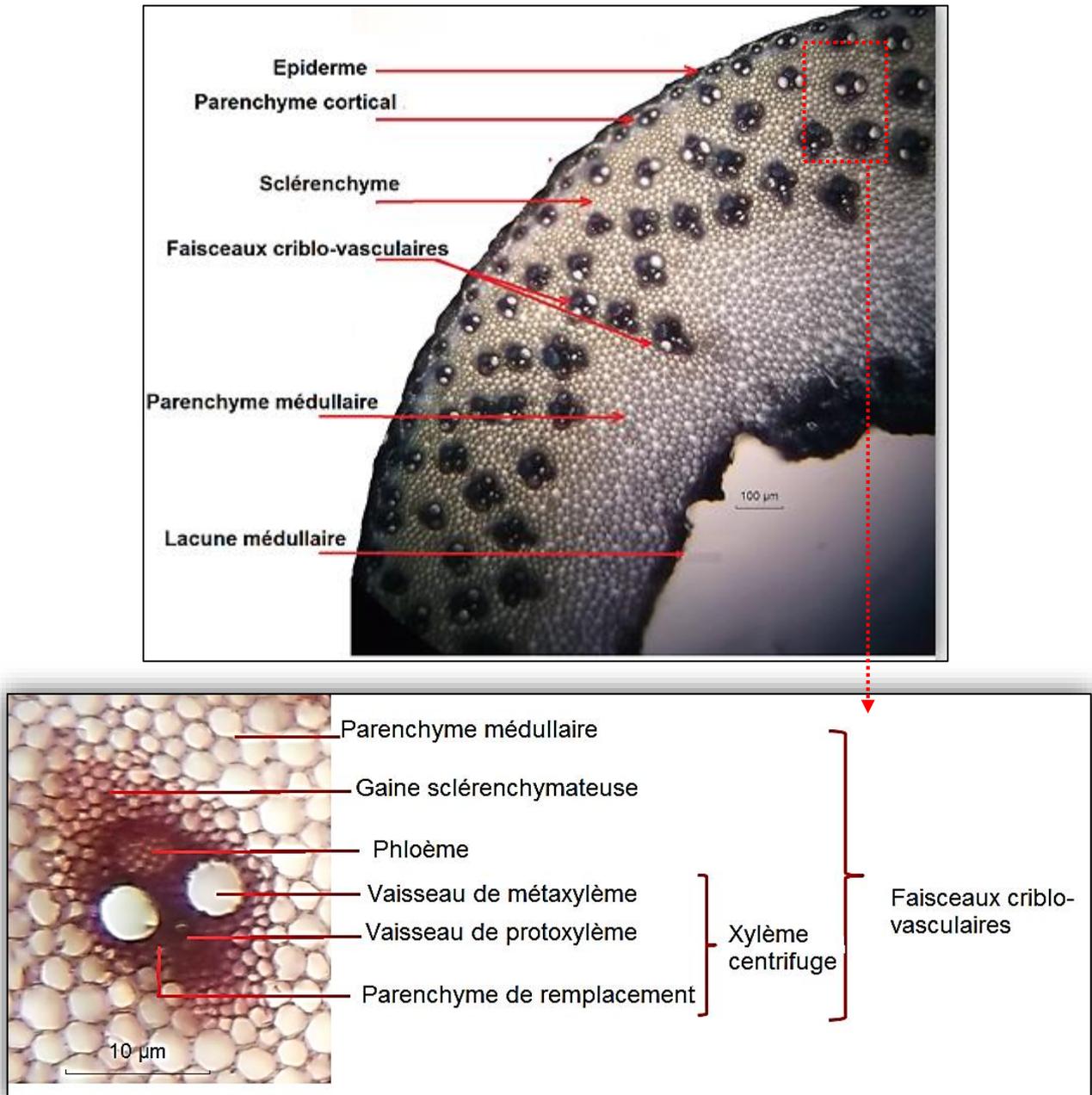
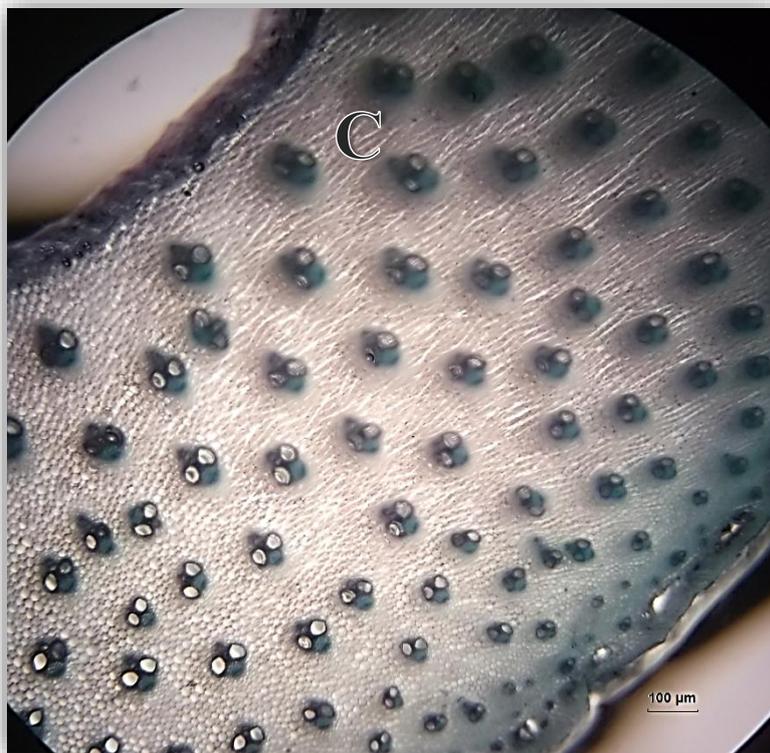
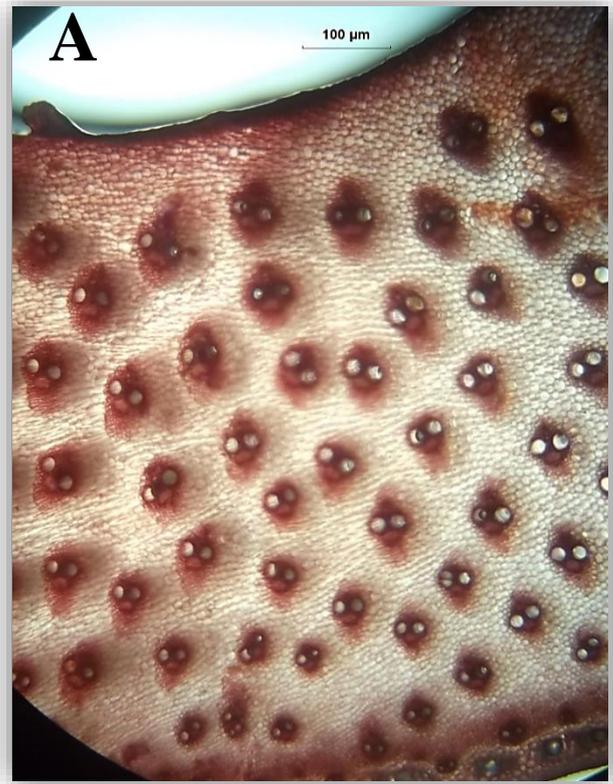
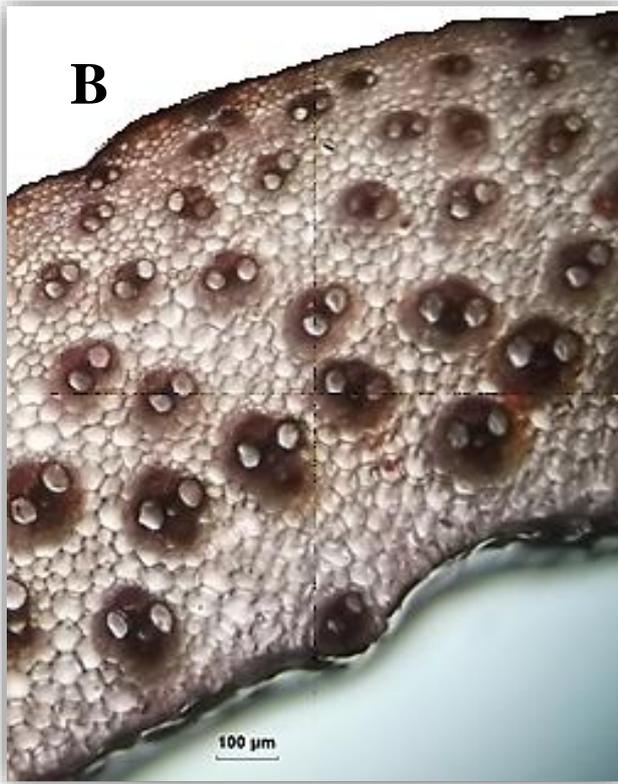


Figure V.47. Coupes transversales au niveau de la tige (témoin)

- Plantes cultivées à 100 mg/l de Nickel



A : traitement avec Ni
B : traitement avec Ni +EDTA
C : traitement avec Ni +NPK

Figure V.48. Coupes transversales au niveau de la tige des plantes cultivées à 100 mg/l (traitements A, B et C)

Tableau V.11 : Les mesures histologiques de la tige d'*Arundo donax* L. réalisé par le logiciel Mesurim pro 3.3. (\pm l'écart-type) représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à $P \leq 0,05$ selon le test t de Student.

	Epaisseur					diamètre du Vaisseau de méta-xylème	nombre Faisceaux criblo-vasculaires
	Epiderme	Parenchyme cortical	Sclérenchyme	Faisceaux criblo-vasculaires	écorce		
témoin	9,86 \pm 0,66a	56,2 \pm 1,9a	41,03 \pm 5,5a	78,3 \pm 15,66a	36,33 \pm 3,9a	29,46 \pm 5,2a	49
Ni	8,25 \pm 1,2b	32,2 \pm 10,5b	37,03 \pm 12,6a	52,66 \pm 15,82b	73,63 \pm 6,51cb	22 \pm 4,7b	80
Ni+EDTA	10,44 \pm 2,3ab	54,9 \pm 2,7a	41,7 \pm 8,8a	87,6 \pm 21,25a	81,66 \pm 8,32c	36,66 \pm 2c,	70
Ni+NPK	12,46 \pm 3,1a	76,5 \pm 4,3c	78,5 \pm 10,25c	81,43 \pm 7,3a	113,66 \pm 14,5d	27,16 \pm 2,3ab	98

Tableau V.12 : Résultats des corrélations entre les différents tissus de la tige

Les couples des différents tissus mesurés	Equation de régression	R ²	Coefficient de corrélation "r"
Epiderme/ Parenchyme cortical	y = 10,21x - 49,729	R ² = 0,9616	0,980601882
Epiderme/ Sclérenchyme	y = 10,014x - 53,105	R ² = 0,8058	0,897657125
Sclérenchyme /Faisceaux criblo-vasculaires	y = 0,3001x + 60,124	R ² = 0,1432	0,378406121
Sclérenchyme /écorce	y = 1,2519x + 14,27	R ² = 0,5841	0,764294029
Sclérenchyme / Parenchyme cortical	y = 0,7957x + 15,509	R ² = 0,7269	0,852586079

L'observation des coupes histologiques au niveau des tiges des plantes traitées ne montre pas l'existence d'une grande différence structurelle entre les traitements et celles des plantes témoins, mais un changement dans la taille des tissus est marqué.

on observe , par rapport au témoin , une augmentation de l'épaisseur de l'épiderme sous le traitement par EDTA et NPK , suivi d'une diminution dans le cas de Ni seul

L'épaississement des tissus de la tige est très élevé lors de l'ajout de NPK, notamment par rapport au témoin.

En ce qui concerne les plantes arrosées par Ni+EDTA, l'augmentation de l'épaisseur des tissus est observée à faisceaux criblo-vasculaires et au diamètre du Vaisseau de méta-xylème. Ce qui favorise la circulation d'une grande quantité de d'eau et de sels minéraux donc une meilleure

adaptation pour transporter les ions métalliques ce qui concorde avec les résultats précédentes de la partie d'accumulation de Ni dans les plantes arrosées par Ni +EDTA à 100 mg/l. Une augmentation dans le nombre de faisceaux conducteurs est remarquable au niveau des plantes traitées par la solution Ni+NPK, presque le double du nombre des faisceaux par rapport aux plantes témoins.

Les plantes n'ont pas montré un changement remarquable du diamètre du faisceau de métaxylème.

- **Corrélation entre les différents tissus**

Les corrélations entre tissus de la plante sont :

Epiderme/Sclérenchyme

Epiderme/Sclérenchyme

Sclérenchyme/écorce

Parenchyme cortical/diamètre du Vaisseau de métaxylème

Sclérenchymel/Parenchyme cortical

Sclérenchyme/Faisceaux criblo-vasculaires

Pour *Arundo donax* L., il existe de très fortes corrélations pour la majorité des tissus ($0.76 < r < 0.98$). Ces fortes valeurs de corrélation expliquent en quelque sorte la bonne relation des traitements appliqués et la relation de croissance cellulaire qui existe entre ces différents tissus. Par contre, il n'existe presque pas de relation entre les différents tissus Sclérenchyme et Faisceaux criblo-vasculaires où le coefficient de corrélation est faible (r inférieur à 0.4). Ce qui semble affirmer que Sclérenchyme et les Faisceaux criblo-vasculaires des tiges connaissent des développements hétérogènes par rapport au traitement appliqué.

1.6.2- Etude anatomique de la racine

L'observation des coupes transversales des racines au microscope optique a permis la comparaison des coupes histologiques réalisées au niveau des racines des plantes témoins (Figure V.49) et celles des plantes polluées par Ni à 100 mg/l et traitées au NPK et EDTA (Figure V.50).

On observe que la racine, en allant de l'extérieur vers l'intérieur, est constituée de deux parties bien distinctes d'inégale importance : l'écorce et le cylindre central (Benbadji et al , 2014)

- **L'écorce** : ensemble des tissus périphériques (rhizoderme ou assise pilifère, exoderme, parenchyme cortical, endoderme)

L'écorce est représentée par un ensemble de tissus qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur :

- **l'assise pilifère** : Une couche uni-strate et continue de cellules aux parois minces et cellulodiques est prolongée par des poils absorbants souvent ramifiées. Ce tissu joue un rôle important dans la protection de la racine.
 - **la zone subéreuse primaire** ou subéroïde ; c'est l'imprégnation de subérine des parois des cellules les plus externes de l'écorce qui les rend étanches et provoque la chute des poils absorbants,
 - **le parenchyme cortical lacuneux** : Ce tissu comprend de nombreuses lacunes, ce qui nous amène à lui donner le nom de parenchyme cortical lacuneux est constitué de cellules à parois minces avec de larges espaces intercellulaires. On parle alors d'aérenchyme. Il est observé dans les racines de plantes poussant en milieu inondé. Ces espaces, ainsi que les propriétés de la paroi pecto-cellulosique permettent une circulation des substances à l'extérieur des cellules et dans la paroi (circulation de l'eau, des substances dissoutes et de gaz.
 - **l'endoderme** ; c'est l'assise cellulaire la plus interne de l'écorce ; il est formé de cellules à section rectangulaire parfaitement jointives dont les parois radiales sont épaissies.
- **Cylindre central** : (= stèle) : dans la racine, ensemble des tissus centraux (péricycle, xylème, phloème, parenchyme, sclérenchyme).

Le cylindre central est de petite taille, en comparaison de l'étendue de l'écorce. C'est à l'intérieur du cylindre central que se trouvent localisés les tissus conducteurs ; Le cylindre central comprend :

- **Péricycle** : Tissus sous-jacent à l'endoderme, il comprend une seule assise de cellules, légèrement épaisse de nature parenchymateuse. Les cellules situées en face des faisceaux ligneux gardent par contre une paroi mince et pecto-cellulosique.
- **Appareil conducteur** : Le cylindre central comprend un assez grand nombre de faisceaux de xylème et de phloème disposés autour d'une moelle centrale sclérifiée.
Le xylème et le phloème forment des faisceaux séparés alternant régulièrement et disposés sur un seul cercle, nous distinguons là aussi : les méta-xylèmes, les protoxylèmes.
- **Les proto-xylèmes** : petites cellules, se trouvent juste après le péricycle.

– **Les méta-xylèmes** : grosses cellules, envahissent la moelle dans certains cas, on dit que la cellule est vieille. On observe aussi des cellules au centre « cellules de moelle, parenchyme médullaire ».

- **La moelle** : est la partie centrale plus ou moins développée de parenchyme cortical, elle est formée de cellules à parois cellulosiques.

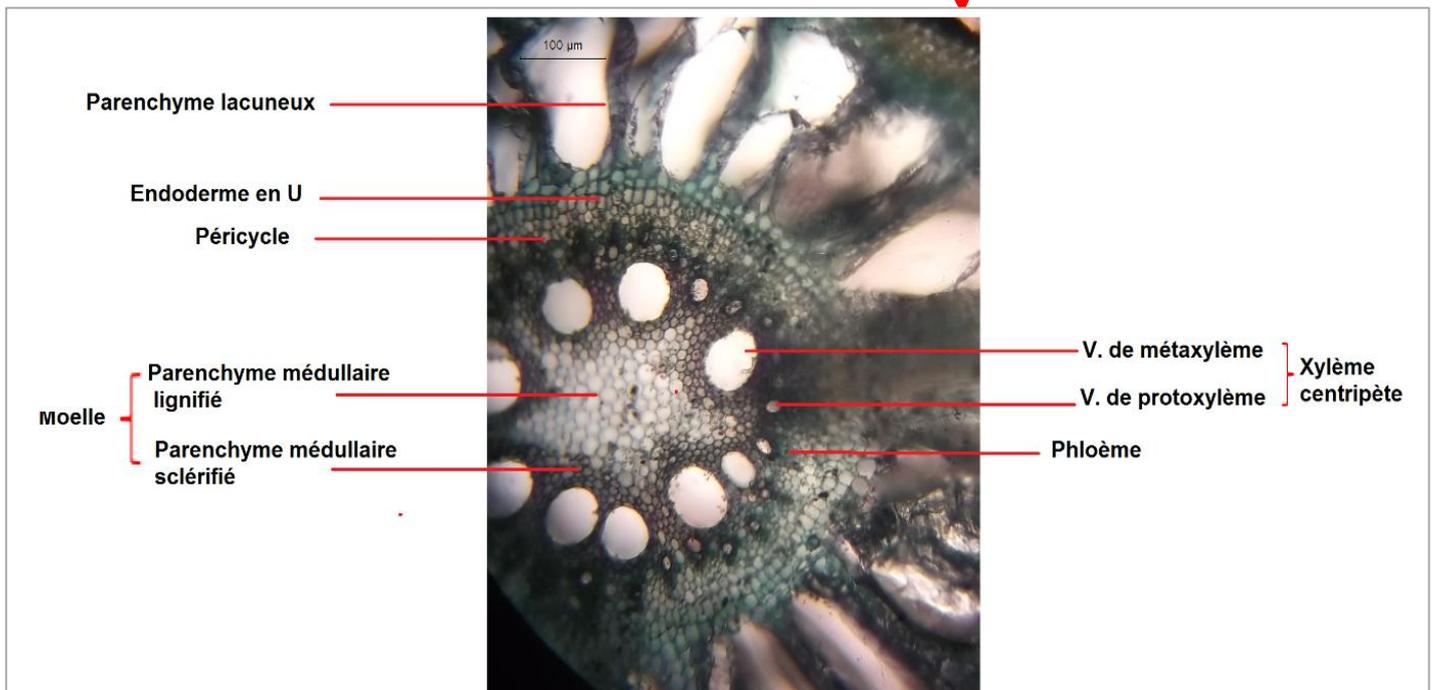
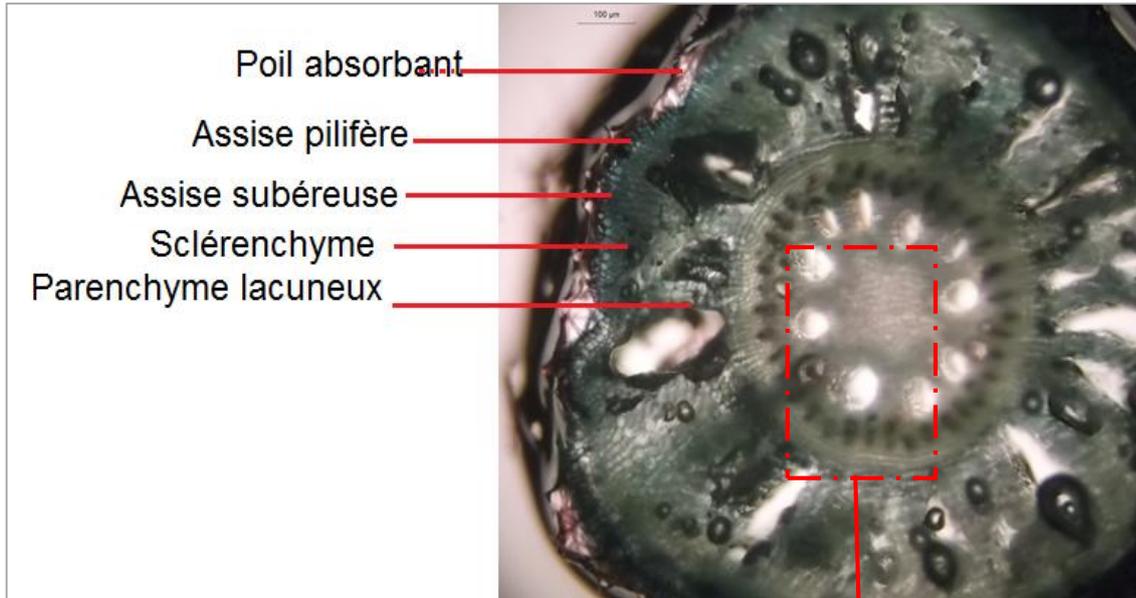


Figure V.49. Coupes transversales au niveau de la racine (témoin)



Figure V.50. Coupes transversales au niveau de la racine (traitements A, B et C : à 100 mg/l)

La mesure des dimensions des différentes structures des tissus est réalisée à l'aide d'un microscope optique et le logiciel MISURIM PRO (Tableau V.13).

Les corrélations obtenues entre les tissus mesurés vont nous donner une reconnaissance sur les adaptations des tissus observés (Tableau V.14).

Tableau V.13. Les mesures histologiques de la racine d'*Arundo donax* L. réalisées par le logiciel Mesurim pro 3.3. (\pm l'écart-type) représentent l'écart-type de l'échantillon (n = 3). Différentes lettres dans le même groupe indiquent une différence significative à $P \leq 0,05$ selon le test t de Student.

Racine	Epaisseur en (μ m)				Nombre de	
	Moelle	Parenchyme lacuneux	Ecorce	Diamètre du cylindre central	V. de métaxylème	V. de protoxylème
blanc	162 \pm 5,1 a	322 \pm 32a	280 \pm 13,2a	271 \pm 3,02a	14	36
Ni	251 \pm 20,3a	314 \pm 7,2b	413 \pm 22,01a	263 \pm 8,2b	13	38
Ni+EDTA	146 \pm 9,3ab	252 \pm 53bc	298 \pm 4,1b	221 \pm 12,04 c	11	55
Ni+NPK	340 \pm 8,02b	372 \pm 5,03c	462 \pm 2,9b	414 \pm 20,9ab	26	77

Tableau V.14 : Résultats des corrélations entre les différents tissus de la racine

Les couples des différents tissus mesurés	Equation de régression	R ²	Coefficient de corrélation "r"
Moelle/Parenchyme lacuneux	y = 0,4589x + 211,86	R ² = 0,69	0,84
Moelle/ecorce	y = 0,956x + 148,39	R ² = 0,94	0,97
Moelle/cylindre central	y = 0,8381x + 103,88	R ² = 0,79	0,89
Parenchyme lacuneux/ecorce	y = 1,253x - 31,453	R ² = 0,48	0,69
Parenchyme lacuneux/cylindre central	y = 1,556x - 197,89	R ² = 0,82	0,91
ecorce/cylindre central	y = 0,7254x + 28,738	R ² = 0,58	0,76
V. de métaxylème/V. de protoxylème	y = 2,2391x + 15,674	R ² = 0,64	0,79

L'examen des coupes anatomiques des racines des plantes d'*Arundo donax* L. témoins (Figure V.47) et des plantes d'*Arundo donax* L traitées à 100 mg/l de Ni par Ni, Ni+NPK et Ni+EDTA montre :

- Une réduction remarquable des mesures histométriques de tous les tissus, excepte nombre de V. de protoxylème, des racines exposées au Ni+EDTA par rapport aux plantes témoins et aux plantes des autres traitements.
- Comme dans le cas de la tige, l'épaississement des tissus de la racine est très élevé lors de l'ajout de NPK, notamment par rapport au témoin qui est presque le double.

-Les traitements en absence de l'EDTA et NPK pour les deux tissus diamètres du cylindre central et l'épaisseur de l'écorce n'entraînent aucun changement, exception faite au niveau des racines témoins où l'on constate une réduction nette des mesures des tissus par rapport aux différents traitements.

-en présence de l'EDTA et NPK, le Parenchyme cortical contient des lacunes élargies par rapport aux racines traité par le Ni seul.

-La réduction du Nombre de V. de métaxylème et de V. de protoxylème est remarquable par rapport aux plantes témoins avec un maximum dans le cas de la présence du NPK.

- **Corrélation entre les différents tissus**

L'étude histométrique de la racine d'*Arundo donax* L. nous montre qu'il existe une forte corrélation entre les tissus. Ces tissus présentent des corrélations avec coefficient de corrélation r à des valeurs entre 0.76 et 0.97 .

2. Discussion

Dans cette partie nous nous proposons de procéder à une discussion générale des principaux résultats obtenus dans notre travail.

En conséquence, les discussions des résultats a été mené afin d'une part d'étudier divers réponses de trois espèces à la présence de Nickel et de Cadmium et d'autre part de déterminer si elles présentent le potentiel suffisant pour être incluent dans des systèmes phytoremédiateurs.

2.1- Évaluation du potentiel de *Zea mays* L. lors de la phytoremédiation assistée par EDTA des eaux et du sol contaminés par le Nickel : culture hydroponique et culture en pots

Dans cette partie de notre travail nous avons étudié les effets de l'application du polluant métallique Ni et du chélateur EDTA sur le développement de *Zea mays* L. ainsi que sur l'accumulation du Nickel en fonction de la concentration appliquée dans les deux substrats : eau et sol.

En absence de l'EDTA, les résultats obtenus montrent que le traitement par les différentes concentrations de nickel dans la solution nutritive inhibe sensiblement l'élongation des racines et la hauteur des tiges des plants de *Zea mays* L..

Nos résultats montrent aussi que la croissance de la partie aérienne de *Zea mays* L. cultivée est légèrement inhibée que celle des racines,

Par contre, dans le cas de la culture en pot avec un arrosage de la solution nutritive et quelle que soit la concentration testée en Nickel, *Zea mays* L. présente une plus forte biomasse aérienne, comparée à la biomasse racinaire, ce qui a déjà observé pour la biomasse sèche.

Une étude similaire a été réalisée en hydroponique, qui va dans le même sens de nos résultats, montre que l'application de Ni a permis de réduire le poids sec des partie aérienne des plantes de *Zea mays* L. (jusqu'à 50,5 %) et de racines (jusqu'à 23,4 %) respectivement par rapport au témoin (Mukhtar et al, 2014).

Les travaux de L'huillier (1997) vont dans le sens contraire de nos résultats, montrent que la croissance racinaire du maïs en culture hydroponique est plus inhibée que celle des parties aériennes, ce qui peut être lié à une teneur en nickel plus élevée dans les racines et cette inhibition préférentielle de la croissance des racines est confirmée par la mesure de l'activité des peroxydases enzymes généralement stimulées lors d'un stress métallique. Il a prouvé que l'inhibition de l'activité mitotique soit la cause principale de la baisse de la croissance racinaire, et finalement de la croissance générale de la plante, puisque 80 % d'inhibition de l'activité

mitotique par le Ni suffisent probablement pour diminuer la longueur de la racine de 55 %. (L'huillier, 1997).

Les travaux de L'huillier (1997) et de (Sabir et al. 2011) sont en accord avec nos résultats de culture en pots.

Dans cette étude, nous avons vérifié les effets du complexant EDTA sur le développement de la plante ainsi que sur l'accumulation de Nickel, dans les différentes parties de la plante, en fonction de la concentration appliquée de Ni et de l'EDTA dans la solution nutritive et dans le sol.

Nous avons trouvé que lorsque l'EDTA est appliqué, la longueur des racines et la hauteur des tiges ont diminué par rapport au témoin en fonction de la concentration croissante de Ni et EDTA dans la solution nutritive.

La biomasse fraîche de la partie aérienne et celle des racines sont significativement plus élevées quelle que soit la concentration de l'EDTA (C₁ ou C₂).

Les plantes cultivées en sol en présence de l'EDTA ne présentent aucun changement de la biomasse.

L'accumulation de Nickel dépend étroitement de la concentration du métal dans la solution nutritive et de la concentration du complexant EDTA (Figure V.28). En termes de teneur, la partie aérienne accumule plus de nickel que les racines ce qui est en accord avec la culture en sol.

L'application de l'EDTA à 0.265 mg/l entraîne une augmentation significative de la teneur en Ni dans la plante. Cependant, à forte concentration de Ni, l'accumulation est diminuée.

Quelle que soit la concentration C₁ ou C₂, l'EDTA entraîne une diminution des teneurs en Ni dans les racines mais une augmentation dans la partie aérienne. L'EDTA mobilise de manière importante le Ni, qui est ensuite absorbé massivement puis transféré vers les parties aériennes. Aux fortes concentrations, l'EDTA entraîne une augmentation de la biomasse de la plante ce qui peut s'expliquer par le fait que les mesures se font sur des parties aériennes jeunes adaptées au stress. L'EDTA à faible concentration dans la solution nutritive entraîne à la fois une diminution de la biomasse et une diminution de la longueur des racines et des tiges.

Cela est expliqué par le fait que le complexant appliqué sur la solution nutritive modifie la solubilité des différents éléments (polluant Ni + éléments nutritifs) présents dans le substrat et augmente ainsi leur absorption par les plantes. Par conséquent, les plantes

absorbent ainsi en plus grandes quantités des éléments nutritifs mais aussi des éléments toxiques, modifiant les processus physiologiques (Vassil et al., 1998).

Cependant, aux plus fortes concentrations en Ni et EDTA l'accumulation du nickel n'est plus augmentée. Il semblerait alors que le *Zea mays* L. mette en place un mécanisme d'exclusion du nickel lorsqu'il est en trop grande concentration et facilement accessible dans le milieu.

L'EDTA à C2 entraîne une diminution des teneurs en Ni dans les racines mais une augmentation dans la partie aérienne.

Nous avons également observé que l'EDTA mobilise de manière importante Ni, qui est ensuite absorbé massivement puis transféré vers les parties aériennes. Les systèmes de contrôle, tels que la séquestration au niveau des racines ou l'exclusion semblent insuffisants, d'où les teneurs importantes de nickel au niveau des parties aériennes.

L'application d'EDTA C2 entraîne une diminution de Ni dans les racines ce qui est dû à la diminution de la biomasse racinaire.

Les plantes excluantes empêchent le transport des métaux vers les parties aériennes en sécrétant au niveau des racines des molécules complexantes. Ce comportement s'atténue quand la teneur en métal présent devient trop importante. (Vassil et al., 1998 ; Chiu et al 2005 ; Brennan et Shelley, 1999).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Mukhtar et al (2014). Ils ont trouvé que la concentration maximale de Ni dans les parties aériennes et les racines (jusqu'à 15,8 mg / kg et 11,8 mg / kg) successivement, l'accumulation totale (jusqu'à 54,9 mg / kg) ont été enregistrés en présence de l'EDTA, respectivement, par rapport au témoin. Ils ont conclu que l'utilisation de chélateur synthétique a augmenté l'absorption et la translocation de métaux lourds dans la biomasse végétale qui pourrait améliorer la phytoremédiation de Ni à partir de l'eau contaminée.

En général, dans des études de culture hydroponique et dans les mêmes conditions, la concentration et l'accumulation de Ni dans la plante de la région de Mascara étaient très supérieures (996.24 mg/kg) par rapport au plante de maïs d'origine du Pakistan 54,9 mg / kg, (Mukhtar et al., 2014) et des plantes de maïs utilisées dans des travaux réalisés à Pologne (610.3 mg/kg) (Antonkiewicz et al , 2016) .

La présence de Nickel dans les différentes parties de la plante de *Zea mays* L. indique qu'il y a un transport de cet élément des racines vers les parties aériennes et du sol vers la plante. L'accumulation, la bioconcentration et la translocation peuvent être évaluées par des

facteurs : le facteur de translocation TF, le facteur de bioaccumulation BF et le facteur de bioconcentration BCF.

Nos résultats indiquent que le BCF de Ni pour les traitements Ni+EDTA C1 et Ni, dans la solution nutritive sont plus élevées pour les fortes concentrations que pour le traitement Ni+EDTA C2. Quel que soit le traitement et le substrat, il y a une faible accumulation de Ni dans les racines ($BCF < 1$) en solution nutritive et ($BCF \ll 1$) dans le sol.

Toutes les valeurs de BF pour Ni sont inférieures à 1 excepté le traitement Ni+EDTA C1 à faibles concentrations 10 mg/l dans la solution nutritive ; cette plante possède donc une faible capacité pour l'absorption de Ni à partir de la solution nutritive et de même à partir du sol en présence de forte concentration de Ni et de l'EDTA.

Par contre, le TF est en revanche ≥ 1 en raison d'une concentration racinaire beaucoup plus faible. Dans le cas des plantes cultivées en pots, les résultats montrent des facteurs de translocation des feuilles supérieurs à 1 pour les traitements Ni où ils atteignent 7.3 à 100 mg/l d'où ils sont diminués par l'ajout de l'EDTA.

Selon (Antonkiewicz et al, 2016), le facteur de translocation (TF) est utilisé pour évaluer les capacités de phytoextraction des plantes, plus particulièrement leurs capacités à transporter le Nickel des racines vers la partie aérienne.

Cependant, ces teneurs élevées en Ni dans la partie aérienne permettent d'augmenter ces biomasses, d'où l'augmentation de TF. Par conséquent, l'augmentation du TF n'est pas due à une meilleure translocation mais à la diminution de Ni dans les racines.

En conclusion, l'application de l'EDTA a un effet bienfaisant sur la croissance de *Zea mays* L.. Ces effets, dus à la dissolution des oligo-éléments de la solution nutritive et dans le sol, ont une influence sur l'accumulation et la translocation de Ni.

L'EDTA permet d'augmenter l'accumulation du Nickel, notamment au niveau de la partie aérienne. Cette accumulation s'accompagne d'une élévation de la translocation vers les parties aériennes. Dans le cas d'une concentration élevée, l'EDTA entraîne une diminution de l'accumulation et de la translocation de Ni.

La capacité de phytoremédiation de *Zea mays* L. à traiter la contamination par le Nickel a été comparée en milieu hydroponique et en sol.

La plante est utile pour le traitement de la contamination des eaux par le Ni tant en culture hydroponique que dans les sols. Cependant, une meilleure absorption a été observée dans les cultures hydroponiques par rapport à l'environnement du sol.

Les travaux de Rathor et al (2014) lors d'une étude comparative de l'effet de la variation de la concentration de nickel sur la croissance de la plante de maïs pour une vue comparative de la culture en Pot et la culture en hydroponie utilisant la solution nutritive de Hoagland, ont montré que le potentiel de *Zea mays* lors de la phytoremédiation des eaux est plus fort que dans les cas de la phytoremédiation des sols.

Une autre étude comparative (Sabeen et al, 2013) de l'*Arundo donax* L. cultivée sous conditions hydroponiques et en sol confirme les résultats de (Rathor et al., 2014) ce qui est le cas dans notre étude.

2.2- Évaluation du potentiel de la phytoremédiation de *Arundo donax* L. d'un sol contaminé par le Nickel (Publication dans le journal : *International Journal of Phytoremediation*)

Cette étude, a été conçue pour déterminer le potentiel de la phytoremédiation de l'*Arundo donax* L. et étudier l'accumulation et la répartition du métal dans différents organes de la plante cultivées dans des sols artificiellement contaminés au Ni. En outre, nous avons examiné la croissance et l'effet de divers additifs : NPK comme un engrais et EDTA comme un chélateur sur l'absorption et la capacité d'accumulation et de la translocation du métal dans différents organes de la plante.

Récemment, l'utilisation de plantes pour éliminer les contaminants de l'eau et du sol pollués peut être une technologie appropriée et attiré plus d'attention en raison du faible coût de mise en œuvre et des avantages environnementaux.

Le stress des métaux lourds peut induire des changements dans les plantes conduisant à une diminution du nombre de feuilles, inhibent l'allongement de la racine, réduisent la hauteur de la plante et la biomasse sèche et la photosynthèse semblent très sensibles à la toxicité des métaux lourds (Shah et al, 2010).

Les effets significatifs du Ni sur la croissance des parties aériennes des plantes ont été bien documentés (Papazoglou, 2005, Shabnam et Seema, 2011),

Dans cette étude, les résultats montrent que *A. donax* L. a été capable de croître dans un sol contaminé par le Ni à faible effet avec une réduction de la croissance des racines et des tiges ainsi qu'une réduction de la biomasse sèche d'*Arundo donax* L. avec des concentrations croissantes de Ni dans les traitements par NPK et EDTA en raison de la toxicité du métal.

Cependant, la réduction de la croissance et la chlorose des feuilles ont été observées à 100 mg / l de Ni.

La concentration moyenne de Ni a augmenté la croissance de la plante dans les trois traitements.

Une expérience réalisée par Papazoglou (2007a) a indiqué que les teneurs en Ni les plus élevées mesurées dans le sol n'ont pas affecté la production de la biomasse sèche, des tiges, des feuilles et des branches de l'*A. donax* L..

D'autres études hydroponiques avec *Helianthus annuus* L. ont montré que le Ni était plus toxique pour les plantes du tournesol (*Helianthus annuus*L) que le Pb (Mukhtaret al., 2010). Différentes espèces végétales ont des capacités d'accumulation différentes et tolèrent des métaux (Mahmood et al., 2015). L'*Arundo donax* L. a reçu une attention considérable pour les sols pollués par les métaux en particulier, pour le potentiel d'absorption de P, Cd et Ni.

Le potentiel cette plante à être utilisé comme une plante dépolluante dépendait des conditions qu'ils réponde aux caractéristiques générales des plantes de phytoremédiation (Alshaal et al , 2015).

Arundo donax L. a montré une bonne tolérance à l'arsenic (Mirza et al, 2010a, Mirza Et al, 2011), le cadmium (Sabeen et al, 2013), le mercure (Mirza et al, 2010b), le Ni (papazouglou, 2007; Papazouglou, 2007), le chrome (kausar, 2012) et les multi-métaux (Bonanno, 2012).

Les résultats expérimentaux ont montré que le Ni était facilement transporté vers les parties aériennes de l'*Arundo donax* L. et peut être utilisée pour traiter le Nickel contenant du sol.

Dans le cas de phytoremédiation naturelle, les concentrations de Ni les plus élevées se trouvaient dans les parties aériennes de l'*Arundo donax* L..

De même, Poniedzialek (2005) a trouvé une accumulation plus élevée de Ni dans les feuilles de betterave rouge comparée avec les racines de stockage. Les feuilles de la betterave rouge contenaient 4,1 fois plus de Ni et 3,7 fois plus de manganèse que les racines de stockage (Poniedzialek et al, 2005). Mirza et al (2011) ont observé que *A. donax* L. a absorbé des quantités raisonnables d'arsenic, et son plus haut proportion a été transloquée aux tissus des tiges (Mirza, 2011). , L'accumulation de Ni par diverses plantes a été observée par plusieurs autres études Sur d'autres plantes (Chaney et al, 1999 ;Mesjasz-Przybyłowicz et al, 2003 ;Janvier et al, 2008 ;Netty et al., 2013) et ces résultats concordent avec nos travaux sur le *Zea mays* L. dans l'expérience précédente.

Pour assurer le succès de la phytoremédiation, l'ajout d'amendements et des agents chélatants ont été proposés. Les données obtenues ont révélé que la concentration de Ni dans plantes cultivées dans le sol modifié avec l'engrais NPK était dans les racines. Selon Carbonell et al. (2011) les racines présentaient une concentration en métal plus élevée que les parties aériennes dans les plantes de (*Zea mays* L.) qui poussent dans des sols modifiés par les engrais NPK. Le système racinaire sert comme une barrière de Cr, Ni, Pb et Hg pour que l'absorption des métaux

soit faible et provoque des absorption très faibles de ces métaux dans les parties aériennes de plantes (Carbonell et al., 2011). De même, Kashem et Singh (2002) ont rapporté que le Ni accumulé à la racine des radis en raison de l'addition de l'engrais et de Ni. (Kashem et Singh, 2002). Les résultats ont révélé que la plante absorbe rarement le Ni du sol et le transporte vers les tiges en présence de NPK.

Le chélateur tel que l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) a été utilisé dans diverses expériences de phytoextraction (Mirza, 2014).

Il est également démontré dans cette étude que la présence d'EDTA a un impact sur la capacité d'accumulation de Nickel dans la plante. Les résultats indiquent que l'accumulation d'élément métallique dans racines était beaucoup plus élevée que dans la tige et les feuilles.

L'addition d'EDTA au traitement augmente l'absorption d'arsenic par les plantes. Pour éviter la toxicité des métaux chez les plantes, l'ajout d'EDTA 5 mg / kg a été recommandée (Mirza et al, 2014). La raison possible pour des concentrations plus faibles de Ni a été expliquée par l'utilisation du sol basique et la perte du complexe Ni- EDTA en raison de la lixiviation s'est produite dans les pots d'expérience.

Avant de transplanter les plantules dans des pots, lorsque du chélateur a été ajouté, la biomasse végétale peut être inhibée et ce chargement conduit vers une réduction considérable du retrait net de métal (Wu et al., 2007 ;Meighan et al., 2011).

Afin d'éviter les effets toxiques d'une forte concentration d'EDTA, il est suggéré de minimiser la disponibilité de chélateur libre. D'autre part, la chélateurs biodégradable pourraient remplacer l'EDTA, aidant à atténuer de nombreux problèmes environnementaux liés à la assisté phytoextraction induite (Wu et al., 2007 ;Evangelou et al., 2007) . Nous avons étudié l'influence des amendements NPK comme engrais et EDTA comme chélateur sur l'accumulation de Ni chez l'*Arundo donax* L. exposés à des concentrations de Ni, faible, moyen et élevé. Cet étude, en particulier, visant à déterminer si la présence de concentrations croissantes de Ni stimule croissance de l' *Arundo donax* L. et si cela pourrait être à améliorer la capacité de résister sur des sols contaminés et de augmenter la quantité de Ni absorbée par différents organes.

Des études récentes similaires ont été fait sur cette plante lors de la contamination par le Ni (Papazoglou, 2005 ; Papazoglou, 2007a ; Papazoglou, 2007b ; Bonanno, 2012 ; Bonanno, 2013;).

Une caractéristique intéressante de cette étude était l'association entre l'accumulation de Ni, la fertilisation par NPK et le métal chélateur EDTA.

L'analyse d'*Arundo donax* L. indique que l'addition d'EDTA a augmenté la concentration de Ni dans les tiges. Cependant, l'absorption de Ni dans les racines à 50 mg / L par rapport à l'ajout de NPK. Traitement de 50 mg / L et de 100 mg / L représentent un test de tolérance pour *A. donax* L.

Les valeurs des facteurs de translocation et de bioaccumulation sont utilisées pour évaluer le potentiel des espèces végétales pour la phytoextraction et la phytostabilisation des métaux lourds (GHOSH et SINGH, 2005).

Les valeurs de BF les plus élevées enregistrées dans cette étude ont été observées au traitement NPK à faible niveau (BF = 1,8) et dans tous les autres cas étaient inférieures à un.

En fait, les valeurs de BF pour les tissus aériens étaient inférieures aux autres traitements pour d'autres métaux. Pour Arsenic BF était de 9,35 chez *A. donax* L. cultivée dans un sol traité avec 300 µg / L d'arsenic (Mirza et al. Al, 2011), en outre, BF = 15,00 pour le traitement des eaux usées synthétiquement contaminées par l'arsenic à 600 µg / L (Mirza et al, 2010a), pour le Cr chrome dans le même plante modèle BF = 2,99 pour un traitement de 100 µg / L (Kausar et al, 2012).

Dans cette étude, l'addition de NPK a montré une bonne capacité de bioaccumulation et de translocation. Une valeur BAF de 1,8 indique en effet une grande efficacité dans la phytostabilisation du nickel. Nos résultats indiquent que l'*Arundo donax* L a montré des capacités accrues de translocation, en considérant les TFs de la tige et les feuilles. Une plante ayant des valeurs élevées de TF a été considérée comme appropriée pour la phytoextraction qui nécessite généralement la translocation élevée de métaux lourds dans les parties aériennes des plantes

Le transfert élevé de Ni de la racine vers la tige indique que *Arundo donax* L. était considéré comme plante favorable de la phytoextraction nécessitant généralement la translocation de métaux lourds dans des parties de plantes facilement exploitables en éliminant la contamination sans détruire la structure et la fertilité du sol (Ghosh Et Singh, 2005; Malik et coll., 2010; Mohebbi et coll., 2012).

Les résultats indiquent que cette plante été identifié comme étant un non-hyperaccumulateur car le Ni accumulé était inférieur à 1000 mg / kg selon (Baker et Brooks, 1989).

Notre enquête a indiqué que le potentiel de la phytoremédiation du sol contaminé par le Ni par *Arundo donax* L. était relativement faible comparé aux plantes hyperaccumulatrices.

En général, les amendements au sol semblent moins influents que le métal lui-même dans la détermination du potentiel de bioaccumulation dans les plantes.

Par conséquent, les facteurs de bioaccumulation calculés sur la base du métal disponible dans le sol fournissent beaucoup plus d'informations que les métaux totaux (Carbonell, 2011). Les valeurs les plus basses de BF, BCF et TF ont prouvé l'élément le moins mobile et le modèle de la plante semble plus approprié pour phytoextraction donnée une valeur de $TF > 1$ (Bonanno, 2013).

En conclusion, la présente étude révèle que l'*Arundo donax* L. cultivée dans des sols contaminés ont une capacité élevée d'absorption le Ni au-delà de la limite de phytotoxicité.

En outre, *Arundo Donax* L. produisent des rendements élevés en biomasse tendent à absorber et à transférer Ni de leur racine en feuilles et les tissus de la tige.

Malgré les fortes concentrations de Ni, les plantes n'ont pas montré un effet nuisible sur la croissance plantes. Les amendements de sol incluant NPK et EDTA peuvent améliorer la biomasse à un certain niveau.

Les valeurs de BF et de TF étaient supérieures à 1, ce qui confirme une aptitude au sol contaminé par le Ni.

Nous pouvons proposer que les plantes étudiées puissent être considérées comme des accumulateurs et utiles pour la phytostabilisation, et pour la phytoextraction dans le cas de la phytoremédiation assistée par un chélateur. Cette plante n'est pas destinée à la consommation humaine ou animale. Ainsi, *Arundo donax* L. peut être utilisé pour la décoration et pour le traitement de vastes sols des eaux contaminés.

En conclusion, la nécessité d'une étude plus approfondie est recommandée d'évaluer le potentiel de phytoextraction de l'*Arundo donax* L. pour le traitement des autres polluants et d'étudier les modifications naturelles ou de la valorisation.

2.3- Effet de Nickel et de cadmium sur les chlorophylles et les croissances des plantes *Helianthus annuus* L., *Zea Mays* L. et *Arundo donax* L.

Le Cd n'est pas un nutriment pour les plantes, il est toxique et peut être accumulé dans différents tissus et organes.

L'application du traitement avec Cd, en général, n'affecte pas significativement les paramètres de croissance, à savoir biomasse fraîche et biomasse sèche des différents organes de plantes de *Helianthus annuus*.

L'application du traitement avec le Ni et le Cd montre un effet toxique du nickel à des concentrations de 100 mg/l expliqué par l'inhibition de la croissance des racines en présence de Ni et la chlorose en présence de Cd.

Les concentrations de Cd et de Ni couplé ou non à l'EDTA agissent positivement sur la croissance et la production de biomasse de l'*Helianthus annuus* qui semble mieux résister et peut être accumule le cadmium mieux que le nickel.

Par contre, quelle que soit la concentration testée en Nickel, *Zea mays* L. présente une plus forte biomasse aérienne, comparée à la biomasse racinaire, ce qui a déjà observé pour la biomasse sèche.

Pour l'*Arundo donax* L., les résultats indiquent qu'il y a eu une réduction de la biomasse et réduction de la longueur des racines avec une concentration accrue de Ni.

Parallèlement la biomasse sèche de ces différentes plantes est abaissée avec toutefois un effet moindre et plus marqué pour ce qui est des racines. Ceci traduit donc un effet de Cd et de Ni sur la teneur en eau dans la plante.

L'exposition à 5 semaines au Cadmium, couplé ou non à l'EDTA, produit au niveau des feuilles, l'apparition du phénomène de chlorose due à une forte diminution de la teneur en chlorophylle marqué dans l' *Arundo donax* L..

Par contre, les chlorophylles mesurés dans le *Zea mays* L. augmente en présence des concentrations croissantes de Cd et même en présence de l'EDTA.

En revanche, le traitement de Ni induit un abaissement de la teneur en chlorophylle a et b et une augmentation en caroténoïdes dans la plante de *Zea mays* L..

Ceci s'accorde avec de nombreux travaux qui rapportent une diminution du contenu en chlorophylle sous l'effet du Cd (De Maria et al., 2013 ; Cheng et al., 2016 ; Xu et al., 2013 ; Yasin Ashraf et al, 2016).

Les résultats concernant l'*Helianthus annuus* montrent que le Cd et le Ni n'affecte pas les concentrations des pigments chlorophylliens des plantes.

Selon Papazoglou et al (2007b), la teneur en chlorophylle mesurée dans les plants de roseaux exposé aux traitements de Ni et Cd, n'a pas été affectée et aucune différence significative n'a été observée entre les plants traités et les plants témoins.

La teneur en chlorophylle réduite due à la toxicité du nickel chez différentes espèces de plantes a été bien documentée (Dubey et Pandey, 2011; Shabnam et Seema, 2011).

Dans le cas du complexe Ni-EDTA, il est possible que l'EDTA provoque la dissolution du métal à un niveau toxique, provoquant l'inhibition de la croissance et des effets apparentes de la biosynthèse de la chlorophylle dans les plantes.

2.4- Impact du nickel sur la structure anatomique des tiges et des racines d'*Arundo Donax* L.

les plantes arrosées par Ni, l'augmentation de l'épaisseur des tissus conductifs . Ce qui favorise la circulation d'une grande quantité de d'eau et de sels minéraux donc une meilleure adaptation pour transporter les ions métalliques ce qui concorde avec les résultats précédentes de la partie d'accumulation de Ni dans les plantes. Une augmentation dans le nombre de faisceaux conducteurs est remarquable au niveau des plantes. Il est possible que l'élargissement des cellules du parenchyme fût une altération de l'allongement de la racine. La moelle racinaire le plus épais probablement une résistance accrue à l'écoulement radial de l'eau et nutriments minéraux NPK. Cependant, le Ni n'a pas affecté la taille des tissus dans les autres traitements. Ceci s'accorde avec les travaux de (Maksimović et al., 2007) , qui a étudié l'effet du Cd et du Ni sur la croissance des racines et des tiges et sur les caractéristiques anatomiques des plantes de maïs rapportent que l'effet de Cd sur la structure racinaire est plus prononcé que l'effet du Ni. Les plantes traitées avec Cd avaient un cortex significativement plus épais et des cellules de parenchyme plus grandes. Dans les racines des plantes traitées au Ni, le nombre de couches de cellules corticales a augmenté, bien que les autres paramètres mesurés n'aient pas été significativement affectés. Par conséquent, l'effet négatif du Ni sur la croissance des racines n'était pas aussi important que celui de la Cd.

L'huilier et al., (1996) a trouvé que dans le maïs, la réduction de la croissance induite par le Ni est principalement la conséquence d'une activité mitotique déprimée dans le méristème racinaire. Cela pourrait être dû à l'effet primaire, pourrait être une action toxique directe du Ni sur le méristème de la racine.



Conclusion générale



Conclusion générale et perspectives

Ce travail vise l'exploration du pouvoir auto épurateur et assisté des plantes (*Zea Mays L.*, *Arundo donax L.* et *Helianthus annuus L.*)

Nous avons étudié divers réponses des trois espèces à la présence de Nickel et de Cadmium et d'autre part de déterminer si elles présentent le potentiel suffisant pour être incluent dans des systèmes phytoremédiateurs.

Nous avons aussi étudié, par des expériences en présence de l'EDTA et la solution nutritive. Les premiers essais de phytoremédiation de Nickel ont été réalisés sur le *Zea mays L.* en culture hydroponique et en pots en présence et en absence de l'EDTA. La biomasse a été mesurée pour évaluer la tolérance et le Nickel a été dosé pour évaluer le potentiel d'accumulation de cette plante. Les résultats obtenus montrent que l'application de l'EDTA a un effet bienfaisant sur la croissance et l'accumulation de Ni dans le *Zea mays L.*.

Cette plante est utile pour le traitement de la contamination des eaux par le Ni tant en culture hydroponique que dans les sols. Cependant, une meilleure absorption a été observée dans les cultures hydroponiques par rapport à l'environnement du sol.

Nous avons ensuite déterminé le potentiel de la phytoremédiation de l'*Arundo donax L.* et étudier la répartition du Ni dans différents organes de la plante. En outre, nous avons examiné la croissance et l'effet de divers additifs : NPK comme un engrais et EDTA comme un chélateur sur l'absorption et la capacité d'accumulation et de la translocation.

La présente étude révèle que l'*Arundo donax L.* cultivée dans des sols contaminés ont une capacité élevée d'absorption le Ni au-delà de la limite de phytotoxicité.

En outre, *Arundo donax L.* produit des rendements élevés en biomasse tendent à absorber et à transférer Ni de leur racine en feuilles et les tissus de la tige.

La plante *Arundo donax L.* peut être considérée comme accumulatrice et utile pour la phytoextraction, et à phytostabilisation dans le cas de la phytoremédiation assistée par un chélateur. Cette plante n'est pas destinée à la consommation humaine ou animale. Ainsi, *Arundo donax L.* peut être utilisé pour la décoration grâce à son effet visuel esthétique et pour le traitement de vastes sols et des grandes surfaces des eaux contaminés.

Dans une autre expérience, nous avons étudié la croissance des plantes, et les éléments de synthèse comme la chlorophylle par exemple, qui constituent les éléments de base pour détecter le stress métallique et ses effets.

La chlorophylle est considérée comme un facteur principal pour évaluer l'état physiologique et biochimique de la plante.

Toutefois, nous avons constaté que les concentrations de Cd et de Ni couplé ou non à l'EDTA agissent positivement sur la croissance et la production de biomasse de l'*Helianthus annuus L.* qui semble mieux résister et peut être accumule le cadmium mieux que le nickel.

Par contre, quelle que soit la concentration testée en Nickel, *Zea mays L.* présente une plus forte biomasse aérienne, comparée à la biomasse racinaire. Pour l'*Arundo donax L.*, les résultats indiquent qu'il y a eu une réduction de la biomasse et réduction de la longueur des racines avec une concentration accrue de Ni.

L'étude de l'effet du transfert et de l'accumulation du Nickel dans les plantes sur les pigments chlorophylliens a montré que la concentration des chlorophylles essentiellement contrôlée par le type de la plante : d'une part, les chlorophylles mesurés dans le *Zea mays L.* augmente en présence de Cd et induit un abaissement en présence de Ni. Par contre la teneur en chlorophylles en présence de Ni est supérieure que les chlorophylles en présence de Cd dans l'*Arundo donax L.*

D'autre part, le Cd et le Ni n'affecte pas les concentrations des pigments chlorophylliens de l'*Helianthus annuus L.*

La mesure de la teneur en pigments permet d'évaluer la toxicité des métaux, ceci suggère que les pigments chlorophylliens ne sont pas l'un des éléments à considérer dans le processus de sélection des plantes de la phytoremédiation.

Dans le cas de la sélection naturelle des plantes, parmi les plantes qui s'implantent spontanément sur le sol contaminé, on peut identifier des candidats intéressants à tester en laboratoire et tester au champ avant l'implantation. Si l'on sélectionne d'autres espèces, il faut le faire en fonction des conditions terrestres ou aquatiques. Parmi les candidates, il y a les plantes dites hyperaccumulatrices peuvent accumuler de grandes concentrations d'éléments-traces métalliques dans leurs tissus. Mais ces plantes ont souvent une petite taille et une croissance lente.

Par opposition, des espèces plus productives peuvent être choisies, plantes à croissance rapide concentrent peu les métaux dans leurs tissus, mais leur forte production de biomasse racinaire ou aérienne leur donne un potentiel de phytoextraction intéressant.

Dans notre cas étude, le choix des plantes modèles s'est porté en considérant les critères de croissance rapide et la forte biomasse.

Deux plantes modèles de cette étude sont des plantes agricoles (le maïs et le tournesol) ont un bon potentiel de phytoremédiation, il peut être risqué de les utiliser si les contaminants qu'elles contiennent finissent par inattention dans la chaîne alimentaire.

Cependant, les essais ont duré cinq semaines, soit trop peu de temps pour remarquer une diminution significative du Nickel dans le substrat. Les études en phytoremédiation ont besoin de beaucoup plus de temps pour être opérantes.

Notre étude comporte des essais préliminaires ont donné des résultats intéressants, une évolution à plus grande échelle et sur une durée plus grande est envisagée.

Pour cela, pour réhabiliter un site contaminé, des études récentes recommandent de travailler avec plusieurs plantes en même temps c'est pourquoi nous avons étudié le potentiel épurateur de trois plantes.

Il ressort de l'ensemble de ces résultats que les plantes *Zea mays L.*, *Arundo donax L.* et *Helianthus annuus L.* sont des accumulatrices bien qu'elles tolèrent des concentrations élevées de Nickel et de Cadmium. Néanmoins, elles peuvent entrer dans un processus de phytostabilisation en présence de l'EDTA dans le cas de l'Arundo.

En Algérie, une récente enquête faite par Gherib et al (2016), a permis d'acquérir des informations importantes en matière des applications environnementales de la phytoremédiation en Algérie, les espèces utilisées, les mécanismes suivis, les motifs de choix des différents procédés, contraintes, propositions et suggestions pour le développement du domaine. En effet, d'après ses résultats obtenus, les procédés de phytoremédiation représentent actuellement 56% des procédés utilisés dans le traitement des eaux usées par lagunage et aucun procédé n'a été fait pour la réhabilitation des sols par phytoremédiation. Aucune des STEP exploitées en Algérie n'adopte les stratégies de phytoremédiation à travers l'utilisation des associations symbiotiques ou des plantes accumulatrices pour la biodégradation et la bioaccumulation des polluants des eaux ou des boues résiduelles.

Cette étude ouvre les perspectives pour la vitalité et la nécessité de la valorisation des résultats des recherches scientifiques sur l'intérêt des ressources biologiques nationales dans la préservation de l'environnement.

Enfin, nous recommandons une valorisation des résultats de la recherche scientifique sur les techniques de phytoremédiation.

Si les résultats obtenus avec les plantes cultivés en pots en laboratoire ou en serre donnent des résultats satisfaisants, un suivi de plantes cultivées sur des sites pollués sera nécessaire pour se

rapprocher d'avantage des conditions naturelles et proposer cette espèce comme une alternative économique et écologique à l'extraction chimique des métaux sur les sites contaminés.

L'ensemble des résultats obtenus constitue une première étape vers une étude approfondie des plantes accumulatrices, bio-indicatrices, tolérantes, excluantes et même hyperaccumulatrices des divers polluants inorganiques et organiques de la flore de la wilaya de Mascara et de l'Ouest algérien.



Références bibliographiques



Références bibliographiques

A

Adamczyk Z., 2003. Particle adsorption and deposition: role of electrostatic interactions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 100-102, 267-347

Adams, G. O., Fufeyin P. T., Okoro S. E., and Ehinomen I., 2015. Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review, *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, vol 03, no. 1: 28-39. doi: 10.12691/ijebb-3-1-5

Agence régionale de l'environnement, 2002- L'épuration des eaux usées par les plantes. AREHN, 4 P.

Ahemad, M., Kibret, M. 2013. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University – Science* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>

Ainouz L., Bendjeddou S., le marché de l'environnement en Algérie, Missions Economiques d'Alger : Fiche de synthèse, Ambassade de France en Algérie, Alger, 2005

Ali-Zade V, Alirzayeva E, and Shirvani T, 2010. Plant Resistance to Anthropogenic Toxicants: Approaches to Phytoremediation; in: Ashraf M, Ozturk M, Ahmad M S A, eds. *Plant Adaptation and Phytoremediation*, Springer Science+Business Media B.V. 173-186

Al-Menaie H. S, Al-Ragom O, Al-Shatti A, Mathew M. and Suresh N. 2012. Effect of Fertilizer Concentration on the Growth Performance of *Cassia nodosa* Buch.-Ham. ex Roxb. and *Cassia fistula* L. Seedlings under Greenhouse Conditions of Kuwait. *Int. Res. J. Plant Sci.*, Vol. 3(2):019-022.

Alshaal T, Elhawat N, Domokos-Szabolcsy E, Kátai J, Márton L, Czakó M, El-Ramady H, and G. Fári M, 2015. Giant Reed (*Arundo donax* L.): A Green Technology for Clean Environment; in: A.A. Ansari et al. (eds.): *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants*, Volume 2, Springer International Publishing Switzerland, 3-20.

Andrès Y., Faur-Brasquet C., Gérente C., Le Cloirec P., 2007. Élimination des ions métalliques et des métalloïdes dans l'eau, *Techniques de l'Ingénieur*, W8000 v1.

Antonkiewicz J., Jasiewicz C., Koncewicz-Baran M., Sendor R., 2016, Nickel bioaccumulation by the chosen plant species, *Acta Physiol Plant* (2016) 38:40 DOI 10.1007/s11738-016-2062-5.

ATSDR, 2008. Draft Toxicological Profile for Cadmium. In ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, [En ligne]. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf> (Page consultée le 29 September 2016).

B

Bachmann H.J., Buschmann J., Mayer J., Bürge D., Annen D., 2009. Analyse de sol par spectrométrie à fluorescence X, *Recherche Agronomique Suisse* 16(8), 290-295.

Baker, A.J.M., and Brooks, R.R., 1989. Terrestrial higher plants, which hyperaccumulate metallic elements – Review of their distribution, ecology, and photochemistry. *Biorecovery* 1, 81-126.

Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R.D., Smith, J.A.C., 1999. Metal hyperaccumulator plants: a review of ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal polluted soils. Ed. Terry N and Banuelos G. Lewis Publishers Boca Raton, London, New York, Washington, 85-107

Ben C. 2005. Analyse du transcriptome lors de l'embryogenèse précoce chez le Tournesol. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse ; Soutenue le 15 septembre 2005 .

Benabadji N., et Benchenafi, Lachachi S., 2014 .Etude comparative de l'anatomie racinaire de deux taxons *Lygeum spartum* L. et *Ammophila arenaria* (L.) Link. (Oranie–Algérie), Méditerranée. *Serie de Estudios Biológicos*. 2014, 25:204-233. doi:10.14198/MDTRRA2014.25.07

Benton Jones, Jr. J., 2014, *Complete Guide for Growing Plants*, (eds) CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, New York, London , 206p

Biney, C., Amuzu, A. T. Calamari, D. Kaba, N. Mbome I. L, Naeve H., Ochumba O., Osibanjo, O. Radeconde, V and M. A. H. et Saad, 1994. "Etude des métaux lourds," *Revue de la pollution dans l'environnement aquatique africain*, FAO, Vol. 25, pp. 37–69, BRGM/RP-51960-FR . 2003, Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle : mécanismes et mise en œuvre, Rapport final. <http://infoterre.brgm.fr/rapports/RP-51960-FR.pdf>

Brezeanu C., 2005. Variation of photosynthesis process, membrane permeability and chlorophyll content of melon leaves during growth: scientific papers. *Horticulture Series*, anul XLVIII (48), vol. 1–2:635–638, 2005. Disponible sur : http://www.univagro-asi.ro/Horti/Lucr_St_2005/110_brezeanu%20c.pdf

BRGM/RP – 58609. 2010. Bureau de Recherches Géologiques et Minières : Rapport FR Juin 2010 «Quelles techniques pour quels traitements – Analyses coûts/bénéfices» : http://www.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/Quelle_technique_quel_traitement-brgm-v-final.pdf

Borovik AJ. 1990, Characteristics of metals in biological systems. In AJ Shaw (Ed.), *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*: 3-5. CRC Press: Boca Raton, Floride, USA.

Becquart P. 2004- Effluents industriels. Des stations biologiques aux membranes de céramique, tout un éventail de solutions adaptées pour les entreprises et les établissements de soins, *Journal des Fluides*. 2004

Belluck D.A, Benjamin S.L, and David S, 2006. Why remediate?, in:Morel J.-L, Echevarria G, Goncharova N, eds. *Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils*, SpringerPublished in cooperation with NATO Public Diplomacy Division 1–23.

Bonanno G,2012. *Arundodonax* as a potential biomonitor of trace element contamination in water and sediment, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 80 ,20–27

Bonanno G, 2013. Comparative performance of trace element bioaccumulation and biomonitoring in the plant species *Typhadomingensis*, *Phragmitesaustralis* and *Arundodonax*, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, .97 ,124–130.

Brennan Mark A., Shelley Michael L, 1999. A model of the uptake, translocation, and accumulation of lead (Pb) by maize for the purpose of phytoextraction, *Ecological Engineering* 12 (1999) 271 – 297.

Burken JG, Schnoor JL; 1996; *Phytoremediation: plant uptake of atrazine and role of root exudates*; *J. Environ. Eng.* 122;958-63

C

Callender E, 2014. *Heavy Metals in the Environment – Historical Trends*, Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences :*Treatise on Geochemistry (Second Edition)* Volume 11:*EnvironmentalGeochemistry*, Pages 59–89. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-095975-7.00903-7>

Cao A, Carucci A, Lai T, La Colla P, Tamburini E, 2007.Effect of biodegradable chelating agents on heavy metals phytoextractionwith*Mirabilisjalapa*and on its associated bacteria, *Eur. J. Soil Biol.* 43 , 200-206.

Carbonell G, Miralles de Imperial R, Torrijos M, Delgado M, Rodriguez J. A . 2011. Effects of municipal solid waste compost and mineral fertilizer amendments on soil properties and heavy metals distribution in maize plants (*ZeamaysL.*). *Chemosphere.* 85: 1614–1623.

Chandra Sekhar K, Kamala CT, Chary NS, Balaram V, Garcia G ,2005. Potential of *Hemidesmusindicus* for phytoextraction of lead from industrially contaminated soils. *Chemosphere* 58: 507-514

Chaney R. L, Angle J. S, Li Y.-M, Baker A. J. M, Reeves R. D, Roseberg R. J, Vok V, Kukier U, Peters C, Zdimal K, and Nelkin J. P, 1999. Phytoextraction of soil Nickel using *Alyssumspecies*, *Proc. 5th Int. Conf. Biogeochem. Trace Elements*, Vienna, July 11–15, 14.

Chaney R, Malik M, Li YM, Brown SL, Brewer EP, Angle JS, Baker AJM, 1997. *Phytoremediation of soil metals. Current Opinion in Biotechnology* 8: 279-284.

Charcosset C., 2006. *Procédés membranaires à application pharmaceutique et biotechnologique*,ITBM-RBM Volume 27, Issue 1 , Pages 1–7.

Chen J-C, Wang K-S, Chen Hc, Lu C-Y , Huang L-C , Li H-C , Peng T-H , Chang S –H, *Phytoremediation of Cr(III) by Ipomoneaaquatica (water spinach) from water in the presence of EDTA and chloride: Effects of Cr speciation*, *Bioresource Technology* 101 (2010) 3033–3039

Cheng J. , Qiu H. ,Chang, Z. Jiang , Z. and Yin W., 2016.The effect of cadmium on the growth and antioxidant response for freshwater algae *Chlorella vulgaris*, SpringerPlus (2016) 5:1290.

Chiffolleau J.C. 2001, La contamination métallique. Technical report, IFREMER, Région Haute Normandie, (Programme scientifique Seine-Aval),. 6, 7
INERIS 2006 Nickel et ses dérivés.- Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques.

Chiu K.K.,. Ye Z.H., , Wong , Enhanced uptake of As, Zn, and Cu by *Vetiveria zizanioides* and *Zea mays* using chelating agents, *Chemosphere* 60 (2005) 1365–1375.

Chopra A.K., . Kumar Sharma A, Kumar V., 2011. Overview of Electrolytic treatment: An alternative technology for purification of wastewater, *Archives of Applied Science Research*, 2011, 3 (5):191-206.

Cooper, E.M., Sims, J.T., Cunningham, S.D., Huang, J.W., Berti, W.R. (1999). Chelate-assisted phytoextraction of lead from contaminated soil. *Journal of Environmental Quality* 28, 1709-1719.

Couillard D., 1979. Sources et caractéristiques des eaux usées issues des différents procédés de l'industrie des pâtes et papiers, *The Science of the Total Environment*,.12, 169-197.

Cunningham S. D. and Berti W. R. (1993) Remediation of contaminated soils with green plants: an overview, *In Vitro Cell. Dev. Biol.* , 29,207-212.

Cunningham S. D., Shann J. R., Crowley D. E., and Anderson T. A, 1997. Phytoremediation of Contaminated Water and Soil, in: Kruger, E., et al. (eds): *Phytoremediation of Soil and Water Contaminants*, ACS Symposium Series 664; American Chemical Society: Washington, DC.

Cunningham SD, Berti WR, Huang JW, 1995. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology* 13: 393-397.

D

De Maria, S. Puschenreiter M., Rivelli A.R.,2013. Cadmium accumulation and physiological response of sunflower plants to Cd during the vegetative growing cycle, *Plant Soil Environ*. Vol. 59, 2013, No. 6: 254–261.

Dixon N. E., E. C. Gazzola, R. L. Blakeley and B. Zarer. 1975. Jack Bean Urease (EC 3.5.1.5). A Metalloenzyme. A Simple Biological Role for Nickel? , *Journal of the American Chemical Society*/ 97:14 / 4131-4132.

Doumont D. F. Libion,2006. Impact sur la santé des différents polluants : quels effets à court, moyen et long terme ? Dossier technique 06-38, Unité RESO, Education pour la Santé, Faculté de Médecine, Université Catholique de Louvain 1,.

Dubey D, and Pandey A, 2011. Effect of Nickel (Ni) on chlorophyll, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activities in black gram (vignamungo). *Int. J. Sci. Nat*, VOL. 2(2), 395-401

Dufresne, M., 2013. Les technologies de traitement des sols contaminés : lesquelles sont durables ?, essai présenté en vue de l'obtention du grade de maître en environnement (m. env.), université de Sherbrooke.

E

El Fantroussi S., Agathos S.N., 2005. isbioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? *Current Opinion in Microbiology*, 8: 268-275.

EPA, Observational Economy Series, 1995. Composite Sampling: Volume 1; EPA 230-R-95-005 August 1995, 22p

Escalante-Ten Hoopen M. et Maïga A., Production et transformation du maïs : COLLECTION PRO-GRO, collection PRO-AGRO, ISF-Cameroun et CTA, Wageningen, Pays-Bas, 2012, 32 p. téléchargeable sur :
http://publications.cta.int/media/publications/downloads/1725_PDF.pdf

Evangelou Michael W.H, Ebel M. , Schaeffer A,2007. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents: A review; *Chemosphere*. 68, 989–1003.

F

Favas PJC, Pratas J, Varun M, D'Souza R & Paul MS, 2014. Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora, "Environmental Risk Assessment of Soil Contamination", 17 p: 485 – 51

Fiche-tournesol, 2016, <http://www.cooperative-apicole.fr/medias/plantes-melliferes-du-mois/Fiche-tournesol.pdf>, consulté le : 13/10/2016.

G

Galinat, W.C., 1973. Preserve Guatemalan teosinte, a recent link in corn's evolution. *Science* 180: 323.

Galinat, W. C. ,1995. The origin of maize: Grain of humanity. *Econ. Bot.* 49 : 3-12.

García-Esquinas E., Marina Pollan, Maria Tellez-Plaza, Kevin A. Francesconi, Walter Goessler, Eliseo Guallar, Jason G. Umans, Jeunliang Yeh, Lyle G. Best and Ana Navas-Acien, 2014. Cadmium Exposure and Cancer Mortality in a Prospective Cohort: The Strong Heart Study , *Environmental Health Perspectives* • volume 122 | number 4, 363-370. Disponible à: <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1306587>

Gerendás J., Polacco J.C., Freyermuth S.K., Sattelmacher B., 1999. Significance of nickel for plant growth and metabolism, *Journal of Plant Nutrition and Soil Sciences* 162, 241-256.
Gherib A., Boufendi M. , Temime A. , Bedouh Y., 2016. Applications de la phytoremédiation dans le traitement des eaux usées en Algérie, *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, n°26, Juin 2016, pp. 99-112

Ghosh M. and S.P. Singh, 2005. Phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Appl. Ecol. Environ.Res.: A review.* 3, 1-18.

Glazer A.N., Nikaido H., 1995. Microbial Biotechnology. In *Fundamentals of Applied Microbiology*. Berkeley: Freeman W.H and Company, 608p.

Gould, F.W. (1968) *Grass systematics* p.1-382. McGraw Hill; N.Y.

H

Hartman WJ Jr.; 1975; An evaluation of land treatment of municipal wastewater and physical siting of facility installations; Washington DC : US Dep. Army .

He ZL, Yang XE, Stoffella PJ. 2005. Trace elements in agro ecosystems and impacts on the environment. *J Trace Elem Med Biol* 19:125–140

Heitzer A., Sayler G.S., 1993. Monitoring the efficacy of bioremediation. *Trends in Biotechnology*, 11:8, 334-343. [doi:10.1016/0167-7799\(93\)90156-4](https://doi.org/10.1016/0167-7799(93)90156-4)

Heller R. 1990. Rôle des oligo-Éléments chez le végétal. *C. R. Acad. Agric. Fr (Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France)* .76: 7-16.

Hill, M. K, 2004. Metals, in :*Understanding environmental pollution*, 2 nd Ed.Cambridge University Press,350-371.

Hitchcock, A.S. and A. Chase (1971). *Manual of the grasses of the United States Volume 2.* p. 790-796. Dover Publications: N.Y.

Hoagland, D., 1938 – The water culture method for growing plant without soil. *Calif.Agric.Exptl.Sta.Cir.* 347: PP1, 39

Hoening M, Hoeyweghen, P. Van and Liboton, J.1979. Evaluation à l'aide d'étalons internationaux de deux méthodes de minéralisation des végétaux. *Analisis.* 7 : 104-106.

Hseu Z-Y , 2004. Evaluating heavy metal contents in nine composts using four digestion methods, *Bioresource Technology* 95 (2004) 53–59

Hyman M et Dupont R.R. 2001. *Groundwater and Soil Remediation, Process Design and Cost Estimating of Proven technologies*, ASCE Press, Reston, Virginie, 534 p.

Hughes JB, Shanks J, Vanderford M, Lauritzen J, Bhadra R; 1997; Transformation of TNT by aquatic plants and plant tissue cultures; *Environ. Sci. Technol.* 31:266-71

I

Ianculov I., Palicica R., Butnariu M., Dumbravă D. & Gergen I. Method of chlorophyll obtaining in crystalline form in (*Abies alba*) and (*Pinus sylvestris*), *Revista de Chimie*, 56(4): 441–443, 2005

INERIS. 2007, Principaux textes réglementaires en lien avec l'après mine et pollutions minières potentielles impactant les milieux eaux et sols. Programme EAT-DRS-03 (rapport final du 04/09/2007.) : DRC-07-86106-09249C.

INERIS. 2006, Nickel et ses dérivés , Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, INERIS –DRC-02-25590-02DF44.doc Version N°1- 2 juillet 2006.

J

Järup L.; Hazards of heavy metal contamination ; *British Medical Bulletin* 2003; 68: 167–182.
Jarvis, M.D. and Leung, D.W.M. (2002). Chelated lead transport in *Pinus radiata*: an ultrastructural study. *Environmental and Experimental Botany* 48, 21-32.

January M. C, Cutright, T. J, Van Keulen H, Wei R. 2008. Hydroponic phytoremediation of Cd, Cr, Ni, As, and Fe: Can *Helianthus annuus* hyperaccumulate multiple heavy metals?. *Chemosphere*. 70: 531–537.

Jardin encyclopédie , <http://nature.jardin.free.fr/> (consulté le : 22 Avril 2014)
Journal Officiel de la République Algérienne., disponible sur : www.joradp.dz.

Juste C., Chassin P., Gomez A., Linères M., Mocquot B. 1995, Les micropolluants métalliques dans les boues résiduaires des stations d'épuration urbaines. ADEME (ed) Paris, 209 p.

Juste, C. 1988. Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol, *Science du sol* - Vol. 26/2, 103-11.

K

Kabata-Pendias A. 2011, Trace elements in soils and plants, 4 th Ed . CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton London New York,.

Kabeer R. , Varghese R. . , Kochu J. K, George J. . , Sasi . P. C and. Poulose S. V, 2014. Removal of Copper by *Eichhornia crassipes* and the Characterization of Associated Bacteria of the Rhizosphere System, *Environment Asia* , 7(2) , 19-29 .

Kashem M.A, and Singh B.R, 2002. The effect of fertilizer additions on the solubility and plant-availability of Cd, Ni and Zn in soil, *Nutr. Cycling Agroecosyst.* 62: 287–296.

Kausar S. , Mahmood Q, Ahmad Raja, I, Khan, A, Sultan, S. , Gilanid , M. A, Shujaat S, 2012. Potential of *Arundodonax* to treat chromium contamination, *Ecol. Eng.* 42 , 256–259.

Kieling-Rubio, M.A.a , Droste, A.b and Windisch, P.G, 2012, Effects of nickel on the fern *Regnellidium diphyllum* Lindm. (Marsileaceae), *Braz. J. Biol.*, vol. 72, no. 4, p. 807-811

Koller E., 2004. Traitement des pollutions industrielles, Ed. Dunod, Paris, pp 424.

Korzeniowska J, Stanislawska-Glubiak E, 2015. Phytoremediation potential of *Miscanthus × giganteus* and *Spartina pectinata* in soil contaminated with heavy metals, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 11648–11657.

Kuriakose, S. V. and Prasad M. N. V., 2008. Cadmium as an Environmental Contaminant: Consequences to Plant and Human Health, in : M. N. V. Prasad (eds) , *Trace Elements as Contaminants and Nutrients: Consequences in Ecosystems and Human Health* , John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New jersey , chapter 16, 373-412.

L

Ladislav S., El-Mufleh A., Gérente C., Chazarenc F., Andrès Y. et Béchet B., Potential of Aquatic Macrophytes as Bioindicators of Heavy Metal Pollution in Urban Stormwater Runoff, *Water Air Soil Pollut* (2012) 223:877–888 , DOI 10.1007/s11270-011-0909-3

L'Huillier L., d'Auzac J., Durand M., and Michaud-Ferrière , 1996. Nickel effects on two maize (*Zea mays*) cultivars: growth, structure, Ni concentration, and localization, *Canadian Journal of Botany* . 74: 1547-1554.

L'Huillier L. ,1997. Mécanismes d'action toxique du nickel chez le maïs, in :Jaffré T., reeves R.D., Becquer T. (eds) : *Écologie des milieux sur roches ultramafiques et sur sols métallifères*, documents scientifiques et techniques, volume III2, p 215-222.

Lakhdari A, Benabdeli K, 2012. Determining the Heavy Metal Pollution in Mascara (Algeria), by Using *Casuarina equisetifolia*, *Ecologia Balkanica*, Vol. 4, Issue 1, 1-7.

Lancaster V. A. et Keller-McNulty S., 1998. A Review of Composite Sampling Methods, Source: *Journal of the American Statistical Association*, Vol. 93, No. 443 (Sep., 1998), pp. 1216-1230

Liu W., Yang Y.S., Francis D., Rogers H.J., Li P., Zhang Q. (2008). Cadmium stress alters gene expression of DNA mismatch repair related genes in *Arabidopsis* seedlings. *Chemosphere* 73 : 1138- 1144.

Lombi, E., Zhao, F.J., Dunham, S.J. and MacGrath, S.P. (2001b). Cadmium accumulation in population of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goeringii*. *New Phytologist*, 145, 11- 20.

Luo C., Shen Z. , Li X. , Alan J.M. Baker , 2006. Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS, *Chemosphere* 63 (2006) 1773–1784

M

Mahmoud Q, Mirza N, and Shaheen, S.2015. Phytoremediation Using Algae and Macrophytes: I, in: A.A. Ansari et al. Eds , *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants*, Springer International Publishing Switzerland, Volume 2: 265-285

Malik R N, Husain S. Z. and Nazir, I, 2010. Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of islamabad, pakistan, Pak. J. Bot., 42(1),291-301.

Mark P. de Souza , Elizabeth A.H. Pilon-Smits, C. Mel Lytle, Seongbin Hwang, Jenny Tai, Todd S.U. Honma, Lucretia Yeh, and Norman Terry, 1998. Rate-Limiting Steps in Selenium Assimilation and Volatilization by Indian Mustard, Plant Physiol. 117: 1487–1494

Martin S., W. Griswold, 2009, Human Health Effects of Heavy Metals, Environmental Science and Technology Briefs for Citizens, Issue 15, . 1-5, Center for Hazardous Substance Research , Kansas State University.

Macek T, Pavlikova D. and Mackova M, 2004. Phytoremediation of Metals and Inorganic Pollutants. In :Singh A, and Ward O P, eds. Soil Biology, Volume 1: Applied Bioremediation and Phytoremediation., 135-157

McGrath SP, Chaudri AM, Giller KE, 1995. Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants. Journal of Industrial Microbiology 14: 94-104.

McGrath S.P., 1998. Phytoextraction for soil remediation. In R.R. Brooks (ed.) Plants that hyperaccumulate heavy metals. CAB Int., Wallingford, UK, 1998, pp. 261-287.

Maksimović I., Kastori *, Krstić L., and Luković J. , 2007. Steady presence of cadmium and nickel affects root anatomy, accumulation and distribution of essential ions in maize seedlings. BIOLOGIA PLANTARUM 51 (3): 589-592,

Marques Ana P.G.C, Moreira H. , Rangel António O.S.S, Castro Paula M.L, 2009b. Arsenic, lead and Nickel accumulation in *Rubus ulmifolius* growing in contaminated soil in Portugal. J. Hazard. Mater. 165 ,174–179

Marques Ana P.G.C, Rangel António O. S. S, And Castro Paula M. L, 2009a. Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Phytoremediation as a Potentially Promising Clean-Up , Technology Critical Reviews in Environ. Sci. Technol..39, 622–654.

Meers Saifullah E, Qadir M, de Caritat P, Tack F.M.G, Laing G. Du, Zia, M. H, 2009. EDTA-assisted Pb phytoextraction: A review, Chemosphere. 74 , 1279–1291.

Meighan M.M, Fenus T. , Karey E, MacNeil , J, 2011. The impact of EDTA on the rate of accumulation and root/shoot partitioning of cadmium in mature dwarf sunflowers. Chemosphere (2011), doi:10.1016/j.chemosphere.2011.01.035.

Mesjasz-Przybyłowicz J, Nakonieczny M, Migula P, Augustyniak M, Tarnawska M, Reimold W. U, Koeberl C, Przybyłowicz, W, And Głowacka E. B, 2004. Uptake of cadmium, lead, Nickel and zinc from soil And water solutions by the Nickel hyperaccumulator *Berkheyacoddii*, Acta Biol. Cracov., Ser. Bot. 46: 75–85.

Mench M., C. Juste et P. Solda.. 1992. Effets de l'utilisation de boues urbaines en essai de longue durée : accumulation des métaux par les végétaux supérieurs. Bull. Soc. bot. Fr. 139, Actual. bot. 141-156,

Mench M, Vangronsveld J, Lepp N, Bleeker P, Ruttens A &Geebelen W. 2005. Phytostabilisation of metal - contaminated sites .in :Echevarria G., Morel J. L., Goncharova N. (Eds). Phytoremediation of metal - contaminated soils. , T. N. Springer, editor Trest, Czech Republic. 109-190.

Michaille P., 2014, La bioremédiation – application à la décontamination des sols et des eaux polluées par des éléments métalliques toxiques ou radioactifs, Article N°38 : association des retraités du groupe cea groupe argumentaire sur le nucléaire, ARCEA/GASN, Ind. 1 du 03 novembre 2014

Miquel M. G.,les effets des métaux lourds sur l’environnement et la santé,rapport d’information n° 261 Office parlementaire d’évaluation des choix scientifiques et technologiques - OPECST- , disponible sur : <https://www.senat.fr/rap/100-261/100-2611.pdf>

Mirza N, Mahmood Q, Pervez A, Ahmad R, Farooq R, Shah M. M, Azim, M. R, 2010a. Phytoremediation potential of Arundodonax in arsenic-contaminated synthetic wastewater, Bioresour. Technol..101, 5815–5819.

Mirza N, Pervez A, Mahmood Q, and Ahmad S. S, 2010b. Phytoremediation of arsenic (As) and mercury (Hg) contaminated soil, World Appl. Sci. J., vol. 8, p. 113–118,

Mirza N, Pervez, A, Mahmood Q, Shah, M. M, Shafqat, M. N, 2011. Ecological restoration of arsenic contaminated soil by Arundodonax L, Ecol. Eng.. 37, 1949 – 1956.

Mirza N, Pervez A. ,Mahmood Q, Farooq R, Shah M. M, 2014.Effect of EDTA on arsenic phytoextractionByArundodonax ,A scientific journal of COMSATS–SCIENCE VISION Vol.20 No.2, 39-48

Mohebbi A, Harutyunyan h, Chorom S. M, 2012. Phytoremediation potential of three plant grown in monoculture and intercropping with date palm in contaminated soil, Intl J Agri Crop Sci. Vol. 4 (20), 1523-1530.

Moldovan Camelia, Eugeniu CRĂINICEANU, Content evaluation of some vegetal pigments of wheat shoots obtained by germination consecutive to zinc treatment, Romanian Journal of Food Science, 1(1): 74–80, 2011

Moletta R. 2009- L’eau, sa pollution, et son traitement . Polycopié 37 p.

Morel J.L., Bitton G., Schwartz C., Schiavon M. 1997- Rapport pour l'OCDE (1997). *Ecotoxicology: responses, biomarkers and risk assesment*.

Mukhtar, S. Bhatti, H.N. Shahzad, S.M., Saqib, Z.A. Kausar, R., 2014. Use of maize (*Zea mays* L.) for phytoremediation of nickle and lead contaminated water, AGRIS : AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY , Issue : 2, Volume : 2 , 64- 71.

Mukhtar S, Bhatti H, N, Khalid M. , Anwar UIHaq M, And Shahzad S, M, 2010. Potential of sunflower (*helianthus annuus* L.) For phytoremediation of nickle (Ni) and lead (Pb) Contaminated water . Pak. J. Bot, 42(6): 4017-4026.

Mulligan, C.N., Yong, R.N. and Gibbs, B.F. (2001). Remediation technologies for metalcontaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology*, 60, 193-207.

Mulligan C.N., Yong, R.N. .2004, Natural attenuation of contaminated soils. *Environment International* . Volume 30, Issue 4, 587–601.<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2003.11.001>

N

Netty S, Wardiyati T, Maghfoer M. D, and Handayanto E,2013. Bioaccumulation of Nickel by five wild plant species on Nickel-contaminated soil, *International Organization of Scientific Research (IOSR),J. Eng., Vol. 3, Issue 5, P 01-06*

Newman L.A., Reynolds C.M. .2004. Phytodegradation of organic compounds. *Current Opinion in Biotechnology* 15 : 225-230.

Ninkov M., Aleksandrov A. P. . , Mirkov I. a ,Demenesku J , Mileusnic D, Stojanov S J , Golic. N, Tolinacki M. ,Zolotarevski L. , Kataranovski D., , Brceski I , Kataranovski M, 2016. Strain differences in toxicity of oral cadmium intake in rats, *Food and Chemical Toxicology* 96 , 11-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2016.07.021>

Nriagu J.O. and J.M. Pacyna., 1988 «Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals». *Nature* 333, 134-139,

Nsanganwimana F, Marchand L, Douay F. and Mench M. ,2014. *Arundodonax L*, a candidate for phytomanaging water and soils contaminated by trace elements and producing plant-based feedstock. A review. *Int. J. Phytorem.*, Volume 16, Issue 10, 982-1017.

O

Owen P. Ward and Ajay Singh, 2004. Soil Bioremediation and Phytoremediation -An Overview, in: Singh A, and Ward O P, eds. *Soil Biology*, Volume 1:Applied Bioremediation and Phytoremediation. Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH, 1-12

P

Papazoglou E. G. ,2007a.*Arundodonax L*. stress tolerance under irrigation with heavy metal aqueous solutions.*Desalination*. 211, 304–313.

Papazoglou E. G, Serelis, Konstantinos G, Bouranis D. L. , 2007b .Impact of high cadmium and Nickel soil concentration on selected physiological parameters of *ArundodonaxL*, *Eur. J. Soil Biol.*. 43 ,207-215.

Papazoglou E.G, Karantounias G.A, Vemmos S.N, Bouranis, D.L, 2005, Photosynthesis and growth responses of giant reed (*ArundodonaxL.*) to the heavy metals Cd and Ni, *Environ. Int.* 31, 243 – 249.

Pepper I. L., Gerba C. P., etBrusseu M. L., 2006.The Extent of Global Pollution. *In* :Ian L. Pepper, Charles P. Gerba, Mark L. Brusseu (eds) : *Environmental & Pollution Science*, 2éme Edition, Amsterdam • Boston • Heidelberg • London • New York • Oxford Paris • San Diego • San Francisco • Singapore • Sydney • Tokyo Academic Press , Elsevier Inc. , page 3-23

Pichtel J., 2007. Fundamentals of Site Remediation For Metal and Hydrocarbon-Contaminated Soils, Government Institutes (eds), The Scarecrow Press, Inc. Lanham, Maryland • Toronto • Plymouth, UK, 438p .

Poëy J. a, C. Philibert, toxicité des métaux, toxicologie : Revue Franoise des Laboratoires, mai/juin2000. N° 323, 35-43,

Pocock Tessa et Marianna Król, and Norman P. A. Huner, The Determination and Quantification of Photosynthetic Pigments by Reverse Phase High-Performance Liquid Chromatography, Thin-Layer Chromatography, and Spectrophotometry ; From: Methods in Molecular Biology, Vol. 274: Photosynthesis Research Protocols Edited by: R. Carpentier © Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2004

Poniedziałek M, Sękara A, Ciura J, Jędrszczyk E, 2005. Nickel and manganese accumulation and distribution in organs of nine crops, *Folia Horticulturae* .Ann. 17/1, 11-22

Porra R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Res.* 73: 149-156.

Punz W.F. and H. Sieghardt. 1993. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. *Environmentul urd E.ypel-intentu1 Botuny* 33: 85-98.

Q

Quinn LD., Holt JS., 2008. Ecological correlates of invasion by *Arundo donax* in three southern California riparian habitats. *Biological invasions*, 10: 591-601.

R

Rabhi M., 2011. Le phytodessalement: approche biologique de dessalement des sols: Evaluation de la capacité de phytodessalement chez quelques halophytes: photosynthèse et productivité photosynthétique, Verlag: Éditions universitaires européennes, 176p

Ramade F., 2000. Dictionnaire encyclopédique des pollutions : Les polluants, de l'environnement à l'homme, EDISCIENCE international, Paris,

Ramdane a, 2011. la politique de protection de l'environnement en Algérie : réalisations et échecs. *مجلة الواحات للبحوث والدراسات*, العدد 13، 16-1 Disponible sur: <http://elwahat.univ-ghardaia.dz> .

Raskin I., Kumar N. P. B. A., Dushenkov S., and Salt D. E. ,1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 5, 285-290.

Redon P.O, 2009- Rôle de champignons mycorhiziens à arbuscules dans le transfert du cadmium (Cd) du sol à la luzerne (*Medicago truncatula*). Thèse Docteur de l'université de nacy, 198 p.

Roger P, Jacq V. 2000. Introduction à la bioremédiation des sols, des eaux et de l'air. Université de Provence Aix-Marseille 1. 99p. Disponible sur : http://pierre-armand-roger.fr/publications/pdf/198_bioremed.pdf

Robert M., Juste C. (1998) Stocks flux d'éléments traces dans les sols du territoire In Epanchage des boues d'épuration urbaines : aspects sanitaires environnementaux. Actes définitifs des journées techniques ADEME. 5 et 6 juin 1997 Paris, 320p.

Rüggeberg M., Burgert I. and Speck T., 2010. Structural and mechanical design of tissue interfaces in the giant reed *Arundo donax*, *J. R. Soc. Interface* (2010) 7, 499–506 doi:10.1098/rsif.2009.0273

S

Sáa I., Semedob M., Cunha M. E.. 2016, Kidney cancer. Heavy metals as a risk factor, *Porto Biomed. J.* 2016;1(1):25-28.

Sabeen M, Mahmood, Q, Irshad M, Fareed I, Khan A, Ullah F, Hussain J, Hayat Y, and Tabassum S, 2013. Cadmium Phytoremediation by *ArundodonaxL.* From Contaminated Soil and Water, *BioMed Res. Int.*, Volume 2013, Article ID 324830, 9 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/324830>

Saltonstall K., Lambert A., Meyerson LA., 2010. Genetics and reproduction of common reed (*Phragmites australis*) and Giant reed (*Arundo donax*). *Invasive Plant Science and Management*, 3, 495-505.

Sabir, M., A. Ghafoor, Saifullah, M.Z.U. Rehman, H.R. Ahmad and T. Aziz, 2011. Growth and metal ionic composition of *Zea mays* as affected by nickel supplementation in the nutrient solution. *Int. J. Agric. Biol.*, 13: 186–190

Salt D. E., Blaylock M. J., Kumar N. P. B. A., Dushenkov S., Ensley B. D., Chet I., and Raskin I. ,1995. Phytoremediation : A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology* 13, 468-474.

Salt, D.E., Smith, R.D. and Raskin, I. .1998. Phytoremediation. *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 643–68.

Sayler G.S., Ripp S. , 2000. Field applications of genetically engineered microorganisms for bioremediation processes. *Current Opinion in Biotechnology*, Volume 11, Issue 3, Pages 286–289. [http://dx.doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00097-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00097-5)

Schnoor JL, Licht LA, McCutcheon SC, Wofe NL, Carreira LH; 1995; Phytoremediation of organic and nutrient contaminants; *Environ. Sci. Technol.* 29 ; 318A-23

Siberlin N., 1996. Biodisponibilité des éléments-traces dans un sol cultivé: étude du transfert dans une culture de maïs en champ et conséquences sur le rendement. Mémoire de fin d'études, IUT Louis Pasteur, Schiltigheim.

Singh R, Gautam N, Mishra A, Gupta R,2011, Heavy metals and living systems: An overview, *Indian J Pharmacol*, Volume : 43 | Issue : 3 | Page : 246-253

SQP : Société québécoise de phytotechnologie, 2014., Fiches techniques de la SQP. 1. LES MARAIS FILTRANTS. 28 mai 2014. www.phytotechno.com

Sterckeman T, Perrigüey J, Caël M, Schwartz C, Morel JL, 2004. Applying a mechanistic model to cadmium uptake by *Zea mays* and *Thlaspi caerulescens*: consequences for the assessment of the soil quantity and capacity factors. *Plant and Soil* 262: 289-302.

Suthan, Suthersan, S. 2001. Natural and enhanced remediation systems, Ed. ArcadisGeraghty& Miller science and engineering. p. 240-267.

Suthan Suthersan S, 1999. Phytoremediation, in: Remediation Engineering Design Concepts, Ed. CRCnetBASE, 268-277.

T

Tak HI, Ahmad F, Babalola OO, 2013. Advances in the Application of Plant Growth promoting Rhizobacteria in Phytoremediation of Heavy Metals. D.M. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 223, Whitacre D.M. (ed.), pp. 33-52.

Tan Y., Kilduff J. E., Kitis M. and Karanfil T., 2005. Dissolved organic matter removal and disinfection byproduct formation control using ion exchange Desalination, Volume 176, Issues 1-3, Pages 189-200. [doi:10.1016/j.desal.2004.10.019](https://doi.org/10.1016/j.desal.2004.10.019)

Theunis L., Des plantes pour dépolluer les sols?, 2015.
<http://www.lesoir.be/923361/article/demain-terre/environnement/2015-06-30/des-plantes-pour-depolluer-sols> (consulté le: 15/11/2016)

Tourte Y, Bordonneau M, Henry M et Tourte C. 2005. Le monde des végétaux, organisation, physiologie et génomique. Ed. Dunod. Paris.

Tremel-Schaub A. et Feix I. 2005- Contamination des sols Transferts des sols vers les plantes. EDP Sciences/ADEME, 407 p.

V

Vangronsveld J., Herzig R., Weyens N., et al. (2009). Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research* 16 (7): 765-794.

Vassil A.D., Kapulnik Y., Raskin I., Salt D.E., 1998. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian Mustard. *Plant Physiology* 117, 447-453.

Verlière G. et R. Heller. 1981. Effets du nickel sur la croissance des racines isolées de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit et caractères de son absorption. *Physiol. Veg.*, 19 (2), 263-275

Vijgen, J., P. C. Abhilash, Y. F. Li, R. Lal, M. Forter, J. Torres, N. Singh, M. Yunus, C. G. Tian, A. Schaffer, and R. Weber. 2010. Hexachlorocyclohexane (HCH) as new Stockholm Convention POPs-a global perspective on the management of Lindane and its waste isomers. *Environmental Science and Pollution Research*, 18, 152–162 doi:10.1007/s11356-010-0417-9

W

Wan L.K. .,2006, Treatment of Power Industry Wastes, *In* : Lawrence K . Wang , Yung-Tse Hung , Howard H . Lo , and Constantine Yapijakis (eds) . *Waste Treatment in the Process Industries* Taylor & Francis Group, Boca raton London, new York 2006, page 581- 621.

Wong J. M. et Hung Yung-Tse, 2006 .Treatment of Oil field and Refinery Wastes, *In* :L. K . Wang , Yung-Tse Hung , Howard H . Lo , and Constantine Yapijakis (eds) . *Waste Treatment in the Process Industries* Taylor & Francis Group, Boca raton London, new York, page 235-306.

Wilke B-M, 2005. Determination of Chemical and Physical Soil Properties, in:Margesin R,Schinner F, eds, *Manual for Soil Analysis – Monitoring and Assessing Soil Bioremediation*,. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 47-93.

Wu L. H, Luo Y. M, and song J, 2007.Manipulating Soil Metal Availability Using EDTA and Low-Molecular-Weight Organic Acids,In :Willey N., eds, *Methods in Biotechnology*, vol. 23: Phytoremediation: Methods and Reviews, Humana Press Inc. 291- 299

Wuana R. A, Felix E. O, 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation, international Scholarly Research Network: ISRN Ecology Volume 2011, Article ID 402647
<http://dx.doi.org/10.5402/2011/402647>.

X

Xu D. , Chen Z. , Sun K., Yan D. , Kang M , Zhao Y., 2013. Effect of cadmium on the physiological parameters and the subcellular cadmium localization in the potato (*Solanum tuberosum* L.), *Ecotoxicology and Environmental Safety* 97 (2013) 147–153.

Y

Yasin Ashraf M., Mahnaz Roohi, Zafar Iqbal, M. Ashraf, Münir Öztürk & Salih Gücel (2016): Cadmium (Cd) and Lead (Pb) Induced Changes in Growth, Some Biochemical Attributes and Mineral Accumulation in Two Cultivars of Mung Bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek], *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. **Volume 47, 2016 - Issue 4**

Yong R N. et Sheremata T. W., Effect of chloride ions on adsorption of Cadmium from a landfill leachate. *Can. Geotech. Journal*, vol 28, 378-387, 1991.

Z

Zaier H. , r Ghnaya T, Ben Rejeb K ., Lakhdar A , Rejeb S, Jemal S, 2010, Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*, *Bioresource Technology* 101 (2010) 3978–3983

Zhitong Y., Jinhui L., Henghua X., Conghai Y.,2012. Review on remediation technologies of soil contaminated by heavy metals, *Procedia : The 7th International Conference on Waste Management and Technology* , *Environmental Sciences* 16 (2012) 722 – 729

Zhu, Y. L., Zayed, A.M., Quian, J.H., De Souza, M., Terry, N., 1999a. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: II. Water hyacinth. Journal of Environmental Quality, 28, 339–344.

Réglementation

-Décret exécutif n° 06-141 du 19 avril 2006

-La loi du 01-02 du 19 juillet 2001

-L'ordonnance N°96-13 du 15 juin 1996 modifiant la loi N°83-17 du 16 juillet 1983

-Décret exécutif N° 93 – 160 du 10 juillet 1993

-la loi N°91-25 du 18 décembre 1991

କ୍ଷମା

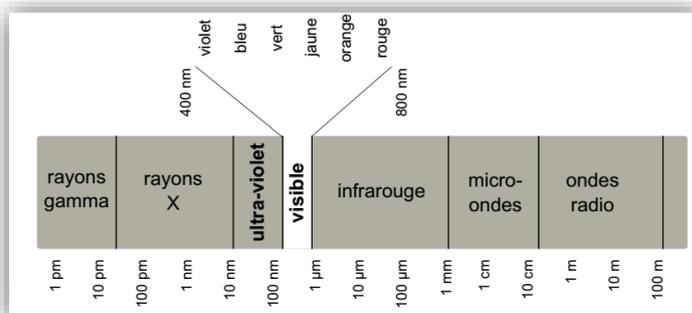
Annexes

କ୍ଷମା

Annexe 1

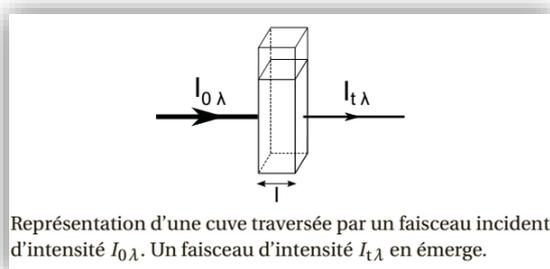
Spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode physique non destructive, basée sur l'interaction matière/rayonnement. Un rayonnement électromagnétique est caractérisé par sa longueur d'onde (λ en nm) dont les différents domaines sont présentés ci-dessous :



Cette technique nécessite l'utilisation d'un spectrophotomètre et permet de caractériser des molécules, de déterminer des concentrations d'espèces chimiques en solution et par extension de réaliser des suivis cinétiques.

Principe de la technique



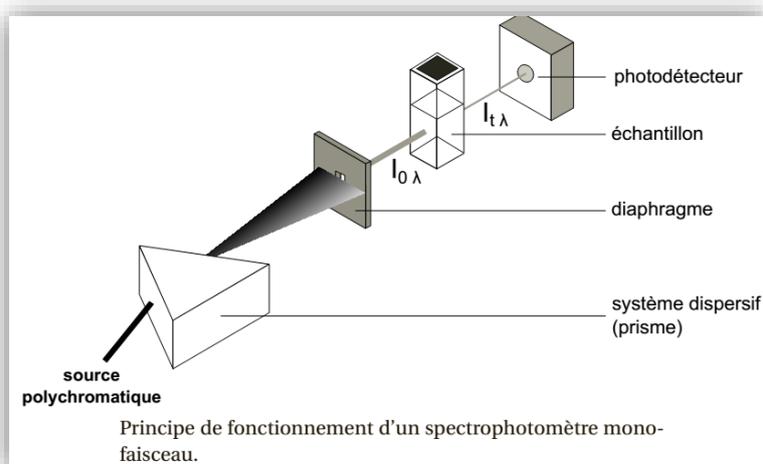
Loi de Beer-Lambert : La loi de Beer-Lambert donne une relation entre l'absorbance A_λ et la concentration c de l'espèce chimique en solution :

$$A_\lambda = \epsilon_\lambda \ell c$$

Avec : – ℓ la longueur de la solution traversée par le faisceau (exprimée en cm).

– c la concentration de l'espèce considérée en solution (exprimée en mol·L⁻¹).

– ϵ_λ le coefficient d'absorption molaire



Référence : Bernard A-S., Clède S., Emond M., Monin-Soyer H., Quéard J., 2012. Techniques Expérimentales en Chimie : fiche 11, pages 71-76, Dunod, Paris.

Annexe 2 :

Spectrométrie d'absorption atomique SAA

L'absorption atomique est un processus qui se produit lorsqu'un atome appartenant à l'état fondamental passe à l'état excité par l'absorption d'une énergie, sous la forme d'un rayonnement électromagnétique, qui correspond à une longueur d'onde spécifique.

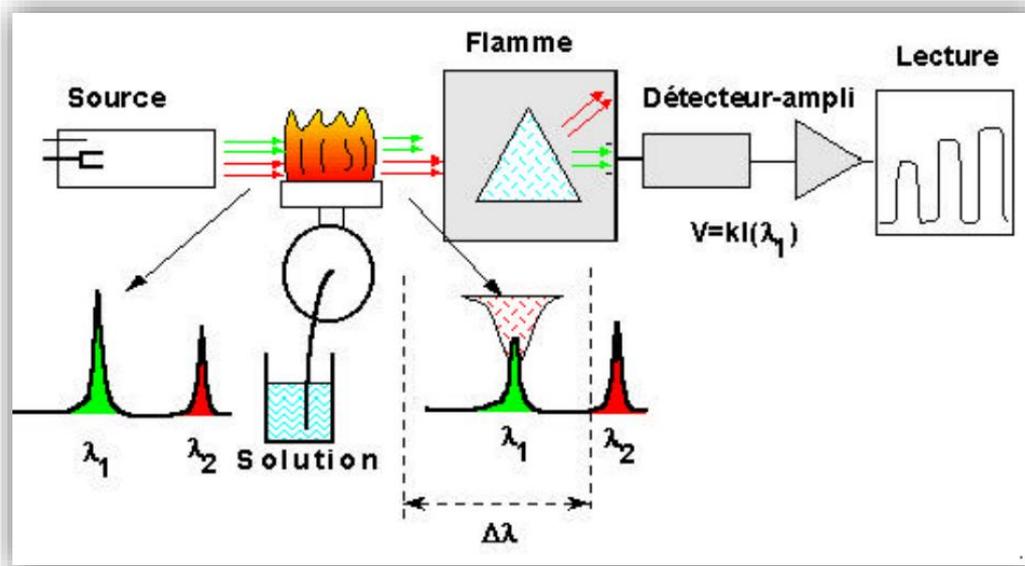


Schéma de principe du spectrophotomètre d'absorption atomique

Les instruments de base pour la spectrométrie d'absorption atomique comportent quatre parties principales :

Le faisceau lumineux issu de la source (Lampe à cathode creuse) traverse la chambre d'absorption (flamme ou four) dans laquelle l'élément se trouve porté à l'état atomique, avant d'être focalisé sur la fente d'entrée d'un monochromateur qui sélectionne un intervalle très étroit de longueurs d'onde. Le trajet optique se termine sur la fenêtre d'entrée du détecteur.

Référence: Pinta M., 1971. Spectrométrie d'absorption atomique, Tome 1 . Ed. Masson et Cie éditeurs. Paris.



Lampe à cathode creuse : La lampe utilisée mono élément de Nickel

Annexe 3 :

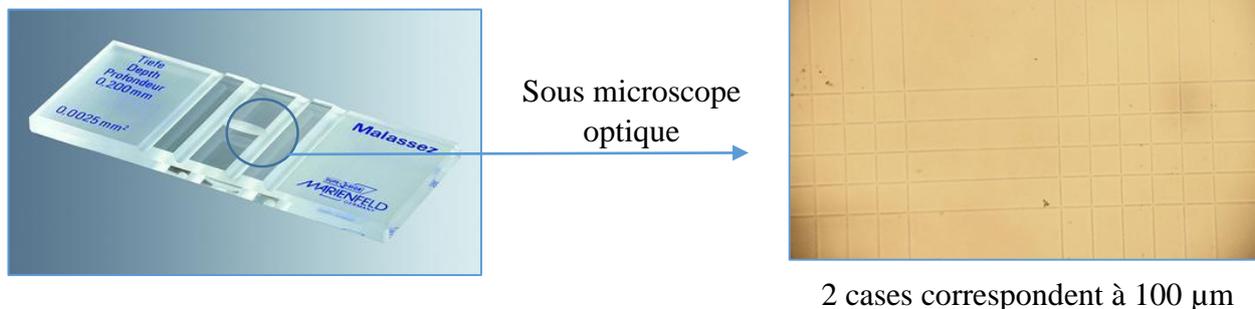
Utilisation du logiciel Mesurim Pro 3.3

✓ Présentation générale

Mesurim Pro est un logiciel gratuit permettant d'effectuer un grand nombre de mesures sur des images (longueur, surface, angle, comptage...) et de faciliter la réalisation de schémas à partir d'images. Ce logiciel, réalisé par Jean-François Madre ACADEMIE AMIENS, est téléchargeable gratuitement sur le site <http://svt.ac-amiens.fr/040-vue-d-ensemble-des-logiciels-de-m-madre>.

Il s'agit, grâce au logiciel Mesurim, de fournir une échelle pour une photographie réalisée Sous microscope.

Pour cela il est nécessaire de réaliser dans les mêmes conditions d'observation (même grossissement), une photographie d'une préparation dont les dimensions sont connues : nous avons utilisé les dimensions de la cellule de Malassez.



✓ Fonctionnement du logiciel pour la mesure de la longueur

Lancer le logiciel mesurim puis charger les deux images

1ère étape :

- Créer une échelle à partir de l'objet connu (la cellule de malassez) :
- Sélectionner l'image de l'objet
- Choisir dans la barre de menu : "image / Créer/modifier une échelle"

Choisir "Echelle à définir"
Puis valider "OK"

Choisir "longueur" comme type d'échelle (échelle identique pour les axes X et Y)
Puis valider "suite"

Choisir le mode sauvegarde :

- "ne pas garder en mémoire" attribue l'échelle uniquement à l'image pour laquelle elle a été définie
- "ajout temporaire" permet d'appliquer cette échelle à différentes images mais ne sera pas conservée une fois le logiciel fermé
- "enregistrer dans le fichier" permet de sauvegarder, sur le disque dur, l'échelle : elle est donc réutilisable pour d'autres sessions.

Nom de l'échelle

Ajouter à la liste des échelles standard

Tapier le nom choisi : malassez 01

VBL:132,111 64,307,131 X:151;Y:234 50.3 µm

L'utilisation de l'outil mesure (outil par défaut quand on lance Mesurim) permet d'obtenir les longueurs (pointer et tirer comme pour la définition de l'échelle)

Création de l'échelle associée à une image

Tracer un trait de longueur connue et indiquer ci-dessous sa longueur et l'unité

échelle de longueur

Tracer un trait de longueur connue et indiquer ci-dessous sa longueur et l'unité

échelle de longueur

Pointer avec la souris puis tirez pour définir la longueur de référence (2 cases correspondent à 100 µm)

Puis valider "OK"

On peut changer la couleur du trait pour une meilleure visibilité

3ème étape :
insérer l'échelle d'une microphotographie :

- Sélectionner l'image concernée
- choisir dans la barre de menu : "image / ajouter la légende de l'échelle"

Pointer la barre d'échelle et la déplacer judicieusement (le mode transparent ou non n'agit pas sur la restitution finale mais constitue une facilité pour déplacer l'échelle en fonction de la couleur de fond)

On peut changer la couleur de l'échelle (Cf. p.5)

Sauvegarder sous un autre nom (pour conserver l'original), choisir le format jpg.

L'image sauvegardée peut être importée et légendée dans un traitement de texte (B2)

2ème étape :
définir une échelle pour une microphotographie :

- sélectionner l'image concernée
- choisir dans la barre de menu : "image / Créer/modifier une échelle"

Dérouler le menu correspondant à "échelle déjà mémorisée", sélectionner l'échelle appropriée puis valider "OK"

L'utilisation de l'outil mesure permet d'estimer les dimensions des cellules

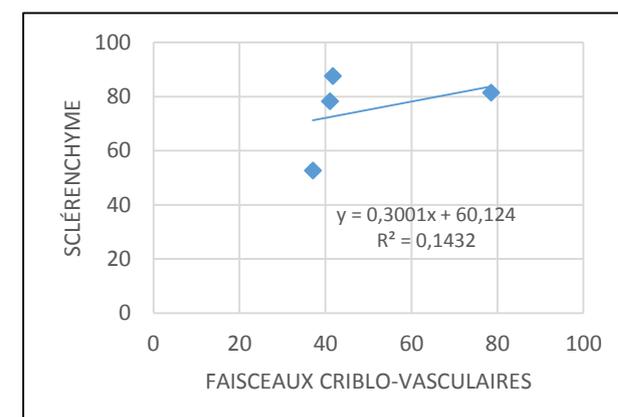
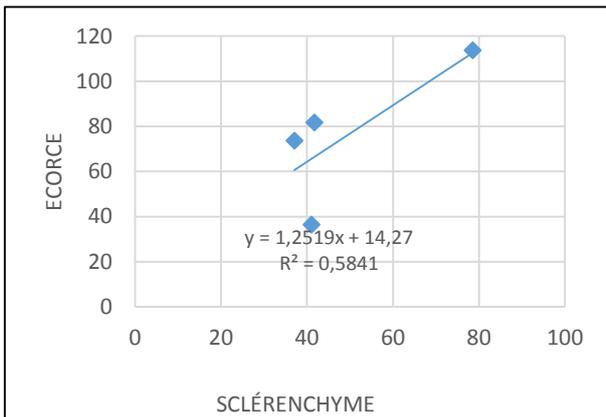
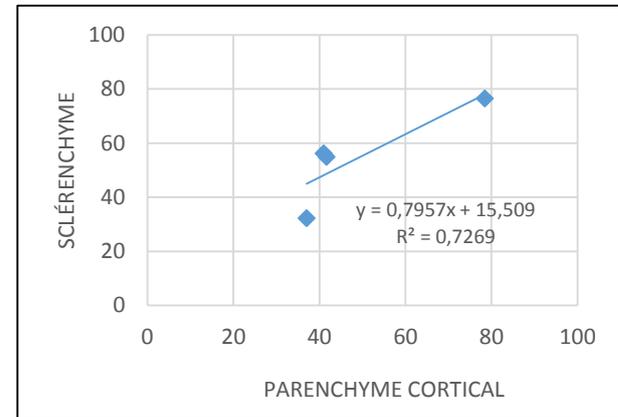
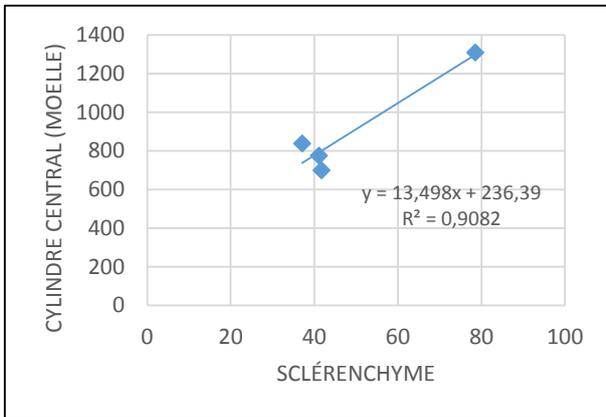
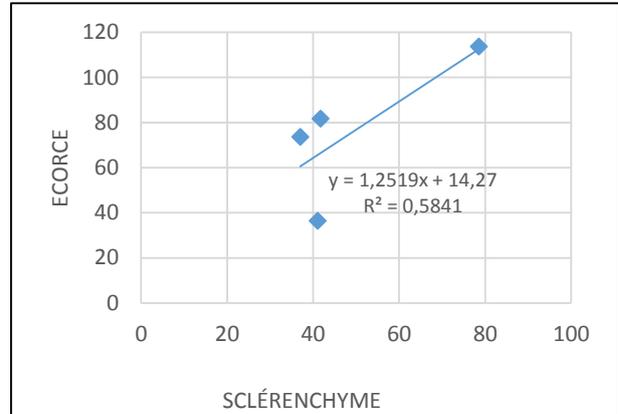
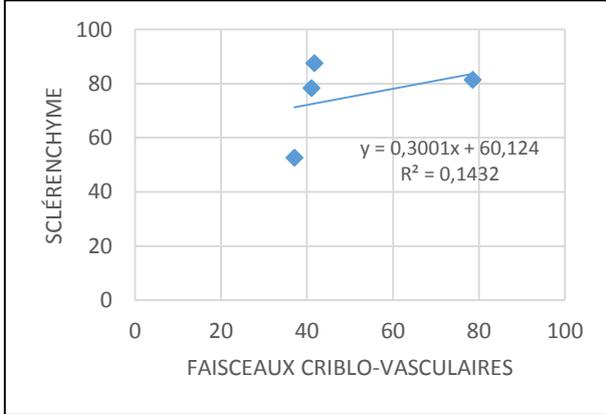
NB : il vaut mieux ne pas se fier au 1/10e de µm !

(il est possible de réaliser un travail statistique sur la taille moyenne d'une famille de cellules et d'aborder la précision des mesures en relation avec la détermination de l'échelle de référence)

Référence : <http://aces.ens-lyon.fr/aces/logiciels/mesurim>

Annexe 4. Corrélations entre les différents tissus

✓ la tige



✓ La racine

