



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université de  
Mostaganem  
Faculté des sciences de la nature et de la vie



**Département de Biologie**  
Laboratoire de  
Biodiversité et Conservation des Eaux et des sols

**Mémoire**  
Présenté par

**Ghourbal Abdellah**

En vue de l'obtention du diplôme de **MASTER**  
En Biodiversité et Environnement

*Thème*

**Effet du plomb sur les paramètres biochimiques  
du *Cléome amblyocarpa* Barr. & Murb**

*Soutenu en Juillet 2021 devant le jury composé de :*

Chadli Rabah. Pr	Président	Université de Mostaganem
Ghamnia Youcef MCB	Examineur	Université de Mostaganem
REGUIEG Yssaad Houcine Abdelhakim. Pr	Encadrant	Université de Mostaganem
BENNAOUM Aicha –Doctorante	Co-encadrant	Université de Mostaganem

*Année universitaire : 2020-2021*

## ***Remerciements***

*Nos remerciements s'adressent en premier lieu à l'éternel Dieutout puissant pour la patience et la santé qui nous ont été indispensable au long de notre parcours.*

*Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincère remerciements à notre encadreur le professeur Mr REGUIEG Yssaad Houcine Abdelhakim et Co-encadreur Mme BENNAOUM Aicha pour leur précieuse aide, leur orientations et leur conseils éclairés.*

*Nous tenons à remercier profondément le professeur Mr Chadli Rabah d'avoir accepté de présider le jury et le docteur Mr Ghamnia Youcef d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous remercions tous nos enseignants pour l'enseignement qu'ils nous ont donné durant notre cycle universitaire.*

*Nous tenons à remercier également tous ceux qui ont contribué de Près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Résumé

Le plomb est l'élément toxique le plus important dans l'environnement qui affecte la vie des organismes vivants. Chez les plantes le plomb ne joue aucun rôle physiologique, sa présence est source de multiples perturbations même à de faibles concentrations. L'objectif de cette travail est d'évaluer l'effet stressant du plomb sur les paramètres biochimiques du *Cléome amblyocarpa* Barr.&Murb., afin de se prononcer sur sa capacité de décontaminer un sol pollué. Pour atteindre ces objectifs, l'expérimentation est réalisée sur des plantes de Cléome, Il a choisi en raison de son adaptation aux conditions climatiques et édaphiques de l'écosystème saharien, ainsi pour sa croissance rapide et sa biomasse importante. Elle a exposées à des différentes doses de plomb (0, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 et 3000 ppm) sous forme de nitrate de plomb ( $Pb(NO_3)_2$ ) ajoutées au substrat de culture qui se compose de sable et de terreau (95 % sol/ 5% terreau). L'estimation des réponses des plantes au stress appliqué est mesurée par l'ensemble des paramètres d'ordre biochimiques. L'accumulation du plomb dans les plantes stressées est accompagnée par une chute dans le rendement du contenu protéique, l'application du stress au plomb a occasionné une augmentation d'accumulation de la chlorophylle et des sucres solubles.

**Mots clés :** Environnement, stress, plomb, *Cléome amblyocarpa*.

## Abstract

Lead is the most important toxic element in the environment that affects the life of living organisms. In plants, lead plays no physiological role, its presence is a source of multiple disturbances even at low concentrations. The objective of this work is to evaluate the stressful effect of lead on the biochemical parameters of *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb., In order to assess its ability to decontaminate polluted soil. In order to achieve these objectives, the experiment is carried out on plants of Cleome, He chose because of its adaptation to the climatic and edaphic conditions of the Saharan ecosystem, as well as for its rapid growth and its significant biomass. He was exposed to different doses of lead (0, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 and 3000 ppm) in the form of lead nitrate ( $Pb(NO_3)_2$ ) added to the growing medium which consists of sand and potting soil (95% soil / 5% potting soil). The estimate of plant responses to applied stress is measured by all the biochemical parameters. Accumulation of lead in stressed plants is accompanied by a drop in the yield of protein content, application of stress to lead resulted in increased accumulation of chlorophyll and soluble sugars.

**Key words:** Environment, stress, lead, *Cléome amblyocarpa*.



## المخلص

الرصاص هو أهم عنصر سام في البيئة يؤثر على حياة الكائنات الحية، في النباتات لا يلعب الرصاص أي دور فسيولوجي ووجوده يعد مصدرًا لاضطرابات متعددة حتى عند التركيزات المنخفضة منه. الهدف من هذا العمل هو تقييم التأثير المجهد للرصاص على الخصائص البيوكيميائية لنبات الكليوم أو مبلوكاربا من أجل تقييم قدرته على تطهير التربة الملوثة و الذي تم اختياره بسبب قدرته على التكيف في الظروف المناخية و الترابية للنظام البيئي الصحراوي وكذلك لنموه السريع وكتلته الحيوية الكبيرة، من أجل تحقيق هذه الأهداف تم تعريض النبات لجرعات مختلفة من الرصاص على شكل نترات الرصاص مضافة الى وسط الزراعة المكون من 95 ٪ تربة و 5 ٪ من تربة الترصيص. يتم قياس تقدير استجابات النبات للإجهاد المطبق بواسطة مجموع الخصائص البيوكيميائية. صاحب تراكم الرصاص في النباتات المجهدة انخفاض في محصول محتوى البروتين ، وأدى تطبيق الإجهاد على الرصاص إلى زيادة تراكم الكلوروفيل والسكريات القابلة للذوبان.

**الكلمات المفتاحية :** البيئة، الإجهاد المعدني، الرصاص، الكليوم أو مبلوكاربا.

## *Liste des figures*

<b>Figure 1 :</b> Evolution de la production mondiale de plomb .....	4
<b>Figure 2 :</b> Cycle biogéochimique des éléments traces métalliques .....	6
<b>Figure 3:</b> Pollution anthropique de l'environnement au plomb .....	7
<b>Figure 4 :</b> Interactions entre le sol, la plante et les microorganismes, influençant la phytodisponibilité .....	10
<b>Figure 5 :</b> Trajet des éléments métalliques de la surface des racines jusqu'au cylindre central par voie apoplastique (en bleu) et voie symplastique (en rouge) .....	11
<b>Figure 6 :</b> Structure d'une phytochélatine.....	15
<b>Figure 7:</b> Techniques de la phytoremédiation.....	17
<b>Figure 8 :</b> Processus de phytoextraction .....	21
<b>Figure 9 :</b> Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs .....	22
<b>Figure 10:</b> Schéma représentant une phytoextraction continue.....	23
<b>Figure 11:</b> Arbre de phylogénie botanique du genre <i>Cleome</i> .....	25
<b>Figure 12:</b> plante <i>Cleome amblyocarpa</i> Barr. & Murb. ....	26
<b>Figure 13:</b> Gousses de <i>Cleome amblyocarpa</i> .....	27
<b>Figure 14:</b> Graines de <i>Cleome amblyocarpa</i> .....	27
<b>Figure 15:</b> Fleures de <i>Cleome amblyocarpa</i> .....	27
<b>Figure 16:</b> Location de d'Oran 1 Es Senia (Google maps, juillet 2021). ....	32
<b>Figure 17:</b> graines de <i>Cleome amblyocarpa</i> Barr. & Murb.....	32
<b>Figure 18:</b> Site de collecte des semences.....	33
<b>Figure 19:</b> Préparation des pots.....	34
<b>Figure 20:</b> Plantes de <i>Cleome amblyocarpa</i> Barr. & Murb après 45 jours de culture .....	35
<b>Figure 21:</b> Récolte des plantes .....	35
<b>Figure 22:</b> Plantes <i>Cleome amblyocarpa</i> Barr. & Murb., dans des papiers d'aluminium.....	35

<b>Figure 23:</b> Teneur en chlorophylle a (mg. g-1 MS) des feuilles de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb .....	37
<b>Figure 24:</b> Teneur en chlorophylle b (mg. g-1 MF) des feuilles de La <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	38
<b>Figure 25:</b> Teneur en chlorophylle totale (mg. g-1 MF) des feuilles de La <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	39
<b>Figure 26:</b> Teneur en sucres solubles (mg. g-1 de MS) des feuilles de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	41
<b>Figure 27:</b> Teneur en protéines totales (mg. g-1 de MF) des parties aériennes de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb... ..	42
<b>Figure 28:</b> Teneur en protéines totales (mg. g-1 de MF) des parties racinaires de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb. ....	43

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1:</b> Principales propriétés physico-chimiques du plomb .....	5
<b>Tableau 2:</b> Caractéristiques de différents procédés utilisés en phytoremédiation. ....	18
<b>Tableau 3:</b> Nombre d'espèces hyper accumulatrices .....	20
<b>Tableau 4:</b> Exemple de plantes hyperaccumulatrices et leur potentiel d'accumulation .....	20
<b>Tableau 5:</b> Les activités biologiques du genre <i>Cleome</i> .....	29
<b>Tableau 6:</b> Dispositif expérimental.....	31
<b>Tableau 7 :</b> Teneur en chlorophylle a (mg/g MF) des feuilles de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	38
<b>Tableau 8 :</b> Teneur en chlorophylle b (mg/g MF) des feuilles de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	39
<b>Tableau 9 :</b> Teneur en chlorophylle totale (mg/g MF) des feuilles de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	40
<b>Tableau 10 :</b> Teneur en sucres solubles (mg/g MS) des feuilles de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	41
<b>Tableau 11 :</b> Teneur en protéines totales (mg/g MF) des parties aériennes de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	42
<b>Tableau 12 :</b> Teneur en protéines totales (mg/g MF) des parties racinaires de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	43

## *List des abréviations*

<b>Al</b>	Aluminium
<b>APG III</b>	Groupe de phylogénie des angiospermes
<b>As</b>	Arsenic
<b>BjMT2</b>	Métallothionéine de classe II
<b>°C</b>	Degrés Celsius
<b>Cd</b>	Cadmium
<b>Cl</b>	Chlore
<b>Chlo a</b>	Chlorophylle a
<b>Chlo b</b>	Chlorophylle b
<b>Chlo t</b>	Chlorophylle totale
<b>cm</b>	Centimètre
<b>Co</b>	Cobalt
<b>Cr</b>	Chrome
<b>Cu</b>	Cuivre
<b>DNA</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>DPPH</b>	Diphényl-picrylhydrazyl
<b>EDDS</b>	Ethylene diamine disuccinate
<b>EDTA</b>	Ethylene diamine tetraaceticacid
<b>Eh</b>	Potentiel d'oxydo-réduction
<b>ETM</b>	Elément trace métallique
<b>FBC</b>	Facteur de bioconcentration
<b>g</b>	Gramme
<b>GSH</b>	Glutathion Sulphydryle
<b>h</b>	Heure
<b>Hg</b>	Mercure
<b>kg</b>	Kilogramme
<b>kDa</b>	Kilodalton
<b>MF</b>	Matière fraîche
<b>mm</b>	Millimètre
<b>Mn</b>	Manganèse
<b>MO</b>	Microorganismes
<b>MS</b>	Matière sèche
<b>MT</b>	Métallothionéine

<b>Ni</b>	Nickel
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>NO</b>	Oxyde nitrique
<b>Pb</b>	Plomb
<b>Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></b>	Nitrate de plomb
<b>PC</b>	Phytochélatine
<b>pH</b>	Potentiel d'hydrogène
<b>ppm</b>	Partie par million
<b>R</b>	Répétition
<b>ROS</b>	Formes réactives de l'oxygène
<b>Se</b>	Sélénium
<b>µg</b>	Microgramme
<b>Zn</b>	Zinc

## *Table des matières*

Remerciement

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction ..... 1

### *Chapitre I : Le plomb*

I. 1. Généralités sur le plomb.....	4
I.1.1. Définition.....	4
I.1.2. Utilisation et production du plomb .....	4
I.1.3. Propriétés physico-chimiques du plomb .....	5
I.1.4. Cycle biogéochimique du plomb.....	5
I.1.5. Origines de la pollution par le plomb.....	6
I.2. Mobilité et biodisponibilité du plomb dans le sol.....	7
I.2.1. Mobilité du plomb.....	7
I.2.2. Influence des paramètres physico-chimiques sur la spéciation du plomb.....	7
I.3. Plomb dans la plante.....	10
I.3.1. Notion de la phytodisponibilité.....	10
I.3.2. Transfert du plomb vers la plante.....	11
I.3.2.1. L'absorption racinaire.....	11
I.3.2.2. Translocation du plomb vers les parties aériennes.....	12
I.3.3. Tolérance et détoxification.....	12
I.3.3.1. Principaux effets du plomb sur les plantes.....	12
I.3.3.2. Mécanismes de détoxification.....	14

## ***Chapitre II : La phytoremédiation***

II. 1. Histoire de la phytoremédiation.....	16
II. 2. Principe de la technique de phytoremédiation.....	16
II. 3. Types de plantes utilisées dans la phytoremédiation .....	19
II. 4. Phytoextraction des sols contaminés par les métaux lourds .....	21
II. 4.1. Phytoextraction induite.....	21
II. 4.2. Phytoextraction continue.....	22
II. 5. Avantages et limites de la phytoextraction.....	23
II. 5.1. Avantages.....	23
II. 5.2. Limites.....	23
II. 6. Utilisation des biotechnologies pour la phytoremédiation.....	24

## ***Chapitre III : Cleome amblyocarpa Barr.&Murb.***

III. 1. Systématique.....	25
III. 2. Genre Cléome.....	25
III. 3. Description de <i>Cleome amblyocarpa</i> Barr.&Murb.....	26
III. 4. Propriétés biologiques.....	28
III. 4.1. Usages en médecine traditionnelle .....	28
III. 4.2. Usage ethnobotanique .....	28
III. 4.3. Activités biologiques.....	28

## ***Chapitre IV: Matériels et méthodes***

IV.1. Objet du travail.....	31
IV.2. Site expérimental.....	31
IV.3. Matériels.....	32
IV.3.1. Matériel végétal.....	32
IV.3.1.1. Choix de l'espèce expérimentée .....	32
IV.3.1.2. Site de collecte des graines.....	33
IV.3.2. Matériel sol.....	33
IV.3.2.1. Substrat de culture.....	33
IV.4. Méthodes.....	33



IV.4.1. Préparation des graines.....	33
IV.4.2. Germination.....	34
IV.4.3. Préparation des pots et Repiquage .....	34
IV.4.4. Application du stress.....	34
IV.4.5. Récolte des plantes.....	35
IV.4.6. Paramètres étudiés.....	36
IV.4.6.1.Dosage de la chlorophylle.....	36
IV.4.6.2.Dosage des sucres solubles totaux.....	36
IV.4.6.3.Dosage des protéines totales.....	36
IV.4.7. Analyse statistique .....	36

## ***Chapitre V : Résultats et discussions***

V.1. Résultats.....	37
V.1.1. Teneur en chlorophylle a, b et totale des feuilles de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	37
V.1.1. 1. Teneur en chlorophylle a.....	37
V.1.1. 2. Teneur en chlorophylle b.....	38
V.1.1. 3. Teneur en chlorophylle totale.....	39
V.1.1. 4. Discussion.....	40
V.1.2. Teneur en sucres solubles des feuilles de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb...	40
V.1.2. 2. Discussion.....	41
V.1.3.Teneur en protéines totales.....	42
V.1.3.1. Teneur en protéines totales des parties aériennes de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	42
V.1.3.2. Teneur en protéines totales des parties racinaires de <i>Cleome amblyocarpa</i> stressée au plomb.....	43
V.1.3.3. Discussion.....	44
Conclusion .....	46
Références bibliographiques .....	48

Annexes

# *Introduction*

### Introduction

Depuis la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, le secteur industriel s'est développé sans se préoccuper des rejets d'éléments toxiques dans les sols. De fait, le sol a été longtemps considéré comme une ressource renouvelable, voire même inépuisable à l'échelle des générations humaines, capable de recevoir sans conséquence les rejets de nos activités. On sait maintenant que les sols sont caractérisés par un équilibre fragile et sont vulnérables (**Lecomte, 1998**).

Les sols contaminés par le plomb sont très nombreux car cet élément a été utilisé dans des secteurs industriels variés depuis des siècles. La présence de plomb dans les déchets en particulier, peut entraîner une contamination des sols et la réduction des possibilités de valorisation et de recyclage des déchets (compostage de déchets, épandage des boues, valorisation des mâchefers en sortie d'incinération...) (**Miquel, 2001**). Ce phénomène pose un problème environnemental, car le plomb est classé parmi les métaux potentiellement toxiques (anémie, hypertension artérielle, saturnisme, etc.) pour l'homme (**Pichard, 2002**) et cet élément persistant s'accumule dans les sols (**Baize, 1997**). Une fois le sol contaminé, le plomb peut être transféré aux écosystèmes et donc représenter un danger pour la santé humaine.

La phytoremédiation constitue une nouvelle technologie permettant de dépolluer les sols contaminés par l'utilisation de plantes (**Zheng et al., 2011**). La capacité de certaines espèces végétales à accumuler les substances a été montrée. Ces plantes, par leurs capacités de détoxification, d'immobilisation ou d'absorption des métaux lourds, pourraient donc constituer un outil intéressant, non seulement pour estimer les risques de transfert potentiel des métaux lourds au sein de l'écosystème, mais aussi comme outil de réhabilitation des sols (**Martin et al., 1996**).

Au cours de ce travail, nous avons choisi d'étudier les effets du plomb sur *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb, et en particulier l'évaluation de la réponse biochimique de Cléome face au stress métallique induit par le plomb.

Ce travail comporte deux grandes parties :

\* La première partie concerne la synthèse bibliographique incluant trois chapitres :

- Le premier chapitre est focalisé sur le plomb.
- Le deuxième chapitre est focalisé sur la phytoremédiation.
- Le troisième chapitre donne un aperçu général sur la plante *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.

\* La deuxième partie est consacrée :

- au matériel et méthodes.
- Résultats et discussion.

Enfin une conclusion générale qui reprend l'essentiel de cette étude et où des perspectives ont été proposées.

*Synthèse*  
*bibliographique*

## I. Le plomb

### I. 1. Généralités sur le plomb

#### I.1.1. Définition

Le plomb (Pb) est un métal gris bleuâtre, brillant, mou et ductile. Constitue des gisements primaires dans les roches éruptives et métamorphiques, il ne se trouve pas à l'état natif, il existe sous forme de sulfure et peut être associé à d'autres éléments tels que le Zn, l'arsenic, l'antimoine, le cuivre et l'argent. Dans l'eau de mer il existe sous trois formes essentielles: dissous, colloïdal et le plomb particulaire. Cet élément est très peu hydrosoluble et de faible mobilité géochimique (Casas, 2005).

#### I.1.2. Utilisation et production du plomb

Le plomb a été l'un des premiers métaux utilisés par l'homme dès l'âge du bronze, il y a plus de 7000 ans. La figure (1) présente l'évolution de la production mondiale de plomb. Du fait de sa relative disponibilité et de ses propriétés physicochimiques (malléabilité, ductilité, bas point de fusion, propriété anticorrosion).

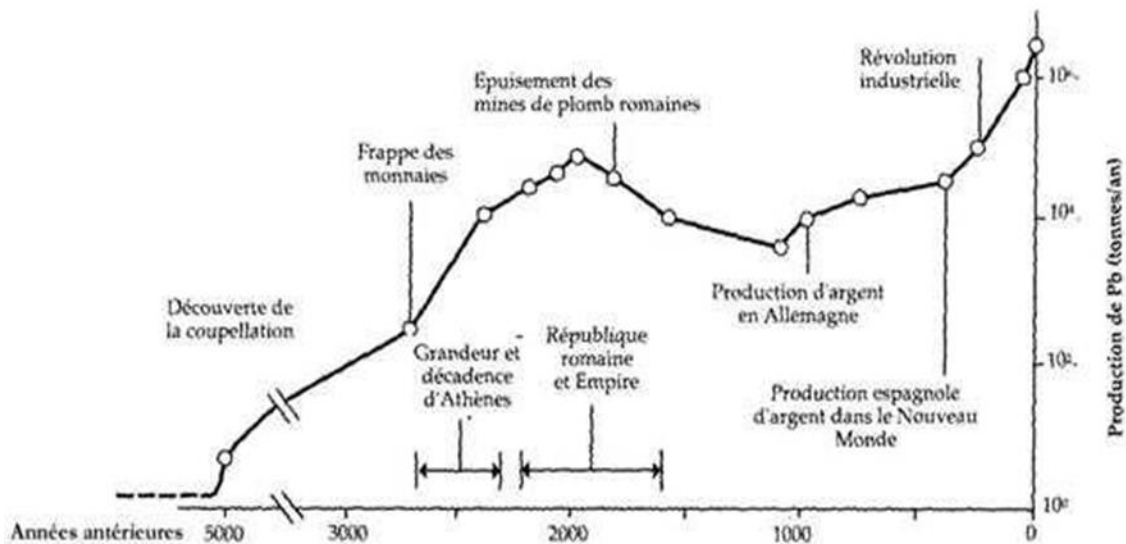


Figure 1 : Evolution de la production mondiale de plomb (d'après Settle and Patterson, 1980).

### I.1.3. Propriétés physico-chimiques du plomb

Le plomb, du latin plumbum est un métal mou, gris, habituellement trouvé en petite quantité dans la croûte terrestre. Il n'a ni goût ni odeur caractéristique. Il appartient au groupe IV b de la classification périodique des éléments. Ses principales propriétés physico-chimiques sont présentées dans le Tableau 1.

**Tableau 1:** Principales propriétés physico-chimiques du plomb (Cecchi., 2008)

Symbole	Pb
Numéro Atomique	82
Masse atomique	207,2g.mol <sup>-1</sup>
Point de fusion	327°C
Point d'ébullition	1740°C
Densité	11,35
Configuration électronique	[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup> 6p <sup>2</sup>
Valence	0, +2, +4
Rayons ioniques	
Pb <sup>2+</sup>	0,94 à 1,49 Å
Pb <sup>4+</sup>	0,78 à 0,94 Å

### I.1.4. Cycle biogéochimique du plomb

Le plomb retrouvé dans l'environnement provient à la fois de sources naturelles et anthropiques. Le métal est présent dans le sol, mais également dans tous les autres compartiments de l'environnement : eau, air et même les êtres vivants (Pourrut, 2008).

Le plomb contenu dans les roches peut se retrouver dans les sols, par altération de ces dernières, à des teneurs variables selon la composition initiale de la roche mère. De même, il est présent dans tous les autres compartiments de l'environnement (eaux, air et même les êtres vivants). Il existe donc un véritable cycle biogéochimique du plomb (tout comme il existe un cycle pour les éléments majeurs et les autres éléments traces) qui peut être schématisé comme sur la Figure (2) et au cours duquel le plomb change de compartiment et de forme chimique sous l'influence de processus naturels ou anthropiques (Cecchi., 2008).

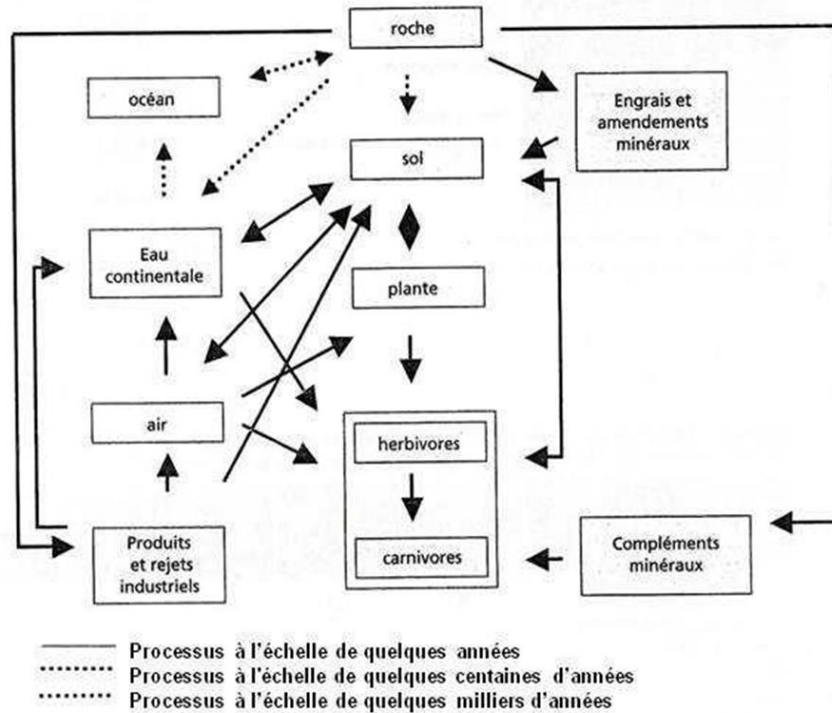


Figure 2 : Cycle biogéochimique des éléments traces métalliques (d'après Lamand *et al*, 1991)

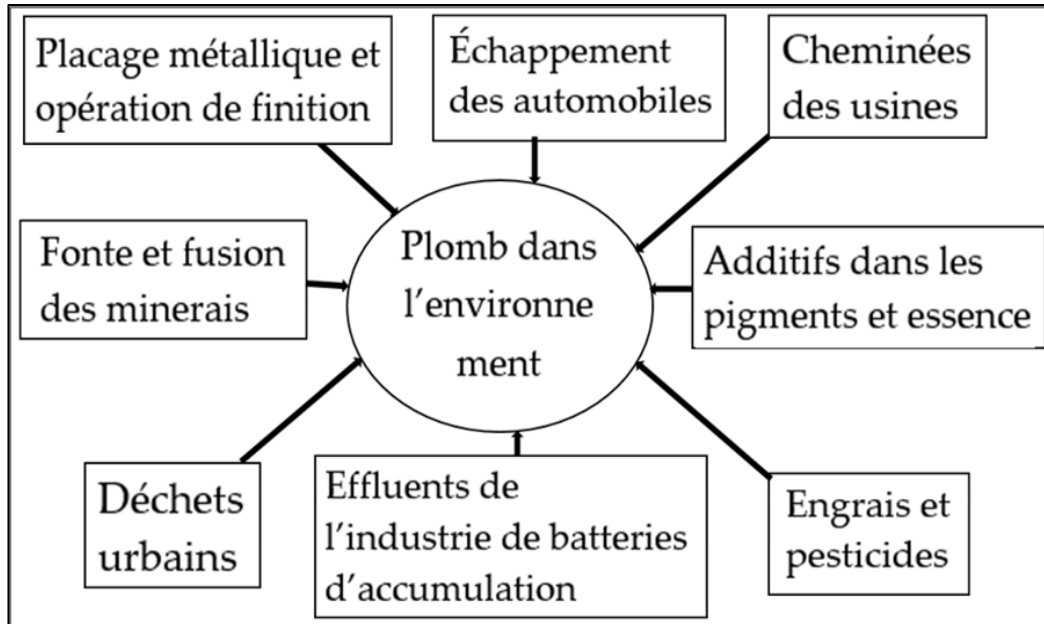
### I.1.5. Origines de la pollution par le plomb

Le cycle naturel du plomb est très limité : les principaux flux entrant dans l'atmosphère et l'hydrosphère sont estimés entre 1 et 23 milliers de tonnes par an (Nriagu, 1989). Il est présent dans la croûte terrestre et dans tous les compartiments de la biosphère. Dans l'air, les émissions de plomb provenant de poussières volcaniques véhiculées par le vent sont reconnues d'importance mineure (Pichard, 2003). L'application de boues d'épuration sur les sols, les déchets animaux provenant de la production de bétail, les résidus de charbon, l'incinération des déchets municipaux et les eaux usées contribuent tous à augmenter la quantité totale de plomb véhiculée dans les différents milieux (Nriagu et Pacyna, 1988). Les autres sources sont liées aux industries produisant des métaux non ferreux, au recyclage des batteries, à la production de ciment ou de céramique et aux industries de recyclages des déchets (Teutsch *et al.*, 2001).

On estime que 68% du plomb s'accumulant dans les sols proviendrait des retombées atmosphériques diffuses alors que seulement 1% du plomb proviendrait de l'utilisation d'engrais (Miquel, 2001). Ainsi, la majorité du plomb contenu dans l'air ambiant provient de la combustion de l'essence plombée (Merian, 1984).



La présence du plomb dans l'eau de consommation est habituellement attribuable au phénomène de corrosion qui survient dans les composantes structurales des réseaux de distribution et dans la tuyauterie domestique qui contiennent du plomb (Gardels et Sorg, 1989 ; Schock, 1990 ; Viraraghavan *et al.*, 1999).



**Figure 3:** Pollution anthropique de l'environnement au plomb (Bocar, 2019).

## I.2. Mobilité et biodisponibilité du plomb dans le sol

### I.2.1. Mobilité du plomb

Le plomb étant en général considéré comme un élément peu mobile dans les milieux naturels, il a donc tendance à s'accumuler dans les horizons superficiels des sols. Les travaux de **Sterckeman, (2000)**, démontrent que dans des profils de sol au voisinage des fonderies, le plomb est essentiellement concentré dans les 30 premiers centimètres.

### I.2.2. Influence des paramètres physico-chimiques sur la spéciation du plomb

#### ➤ Influence du pH

Le pH des sols est l'une des propriétés essentielles déterminant le comportement des éléments chimiques. Il tient un rôle majeur dans la mobilité des ETM, notamment dans leur mise en solution et leur mobilité à travers le sol (**Legros, 2007**).

Le pH du sol est un des facteurs qui influence le plus sur la mobilité et la biodisponibilité du Pb (Swaine, 1986). Les risques de mobilité sont plus grands dans les milieux acides, alors que la solubilité diminue avec l'élévation du pH. A pH 5, le plomb semble majoritairement adsorbé aux oxydes et aux matières organiques (Alloway, 1995), et une augmentation du pH a pour effet de rendre le plomb moins biodisponible. Zhang (1999) remarque que le plomb est déplacé de la fraction sulfate  $PbSO_4$  vers la pyromorphite  $Pb_5(PO_4)_3Cl$  sous l'effet du pH et en présence d'apatite. Martinez et Motto (2000) ont montré, dans différents types de sol, que la concentration des métaux dans la phase aqueuse augmentait quand le pH diminuait.

➤ **Influence du potentiel redox**

Le potentiel d'oxydoréduction (Eh) exprime le flux d'électrons des agents réducteurs vers les agents oxydants. Il est contrôlé par l'activité des électrons en solution (Sposito, 1989). Bien que le plomb garde globalement le même état d'oxydation dans les milieux naturels, sa mobilité va néanmoins être affectée par des variations de potentiels redox du milieu. Ces variations sont susceptibles de modifier la chimie de la phase aqueuse, pouvant entraîner des phénomènes de précipitation de minéraux contenant du plomb. A l'inverse, ces variations de potentiel redox peuvent entraîner la dissolution de phases porteuses de plomb. Evans (1989) montre qu'une diminution de la teneur en eau ou en matière organique favorise une augmentation du potentiel redox. Chuang *et al* (1996) observent une augmentation de la solubilité du plomb et du zinc lorsque le potentiel redox diminue.

➤ **Influence de la composition minéralogique du sol**

Dans la mesure où la mobilité du plomb est majoritairement contrôlée par des phénomènes d'adsorption ou de précipitation/dissolution, elle va être dépendante de la composition minéralogique du sol, notamment de la teneur en phases adsorbantes (matière organique, argile, oxydes...). La teneur en carbonates va également affecter la mobilité du plomb. En effet, dans les sols riches en carbonates, le plomb va pouvoir être piégé par simple adsorption à la surface de la calcite ou par précipitation minérale due aux pH élevés de ce type de sol. Veeresh *et al* (2003) ont étudié l'adsorption de métaux lourds dont le plomb sur 3 types de sol : acides, neutres et alcalins.

Les résultats obtenus montrent que les caractéristiques minéralogiques et chimiques des sols neutres et alcalins sont plutôt favorables à un piégeage du plomb par précipitation ou co-précipitation minérale (carbonates, oxydes..) à l'inverse dans les sols acides, le plomb semble lié à la fraction échangeable et a donc une plus grande mobilité potentielle. (Veeresh *et al.*.,2003).

➤ **Influence des ligands présents dans la phase aqueuse**

La teneur et le type de ligands contenus dans la phase aqueuse sont susceptibles de complexer le plomb, augmentant sa mobilité. Ainsi, la présence de matière organique dissoute va avoir tendance à favoriser la migration du plomb vers les horizons profonds du sol, par la formation de complexes organo-minéraux, qui entraînent une limitation de l'adsorption du plomb sur les autres constituants du sol (Sauve *et al.*, 1998 ; Sterckeman *et al.*, 2000).

➤ **Influence de la fraction colloïdale**

En milieu naturel, le plomb est fréquemment associé à la fraction colloïdale, qui peut être organique (composés humiques) ou inorganique (oxyhydroxydes métalliques). Cette fraction aura tendance à favoriser la mobilité du plomb et à modifier sa biodisponibilité. Lorsqu'elle va être soumise à des changements de conditions chimiques (variations de pH, de force ionique...), elle va subir un certain nombre de modification physico-chimiques. Au niveau des estuaires, à la rencontre des eaux douces et des eaux de mer, elle va par exemple être affectée par des phénomènes d'agrégations et de coagulation. Ces processus vont aboutir à une accumulation des métaux au sein du sédiment (BRGM 2004).

➤ **Influence des microorganismes sur la spéciation du plomb**

Les microorganismes peuvent limiter la mobilité des métaux, par des phénomènes d'adsorption à l'interface solide/liquide, les bactéries jouant un rôle de transport des métaux dans la phase liquide. Elles peuvent aussi augmenter le lessivage et la dissolution des métaux en sécrétant des molécules organiques, qui entraînent une acidification du sol (Ernst, 1996). Le champignon *Aspergillus niger* est capable de solubiliser la pyromorphite et de la transformer en oxalate de plomb hydraté (Sayer *et al.*, 1999).

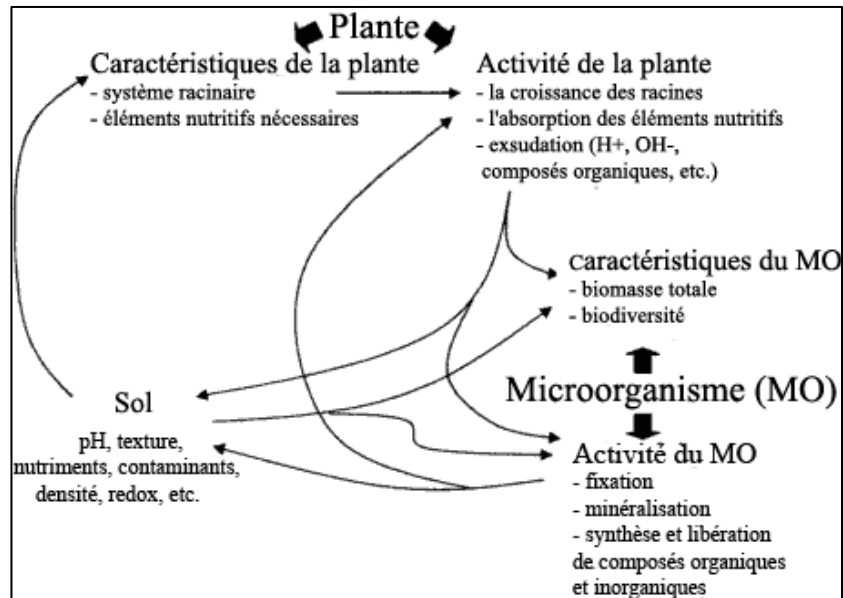
### I.3. Plomb dans la plante

#### I.3.1. Notion de phytodisponibilité

La notion de phytodisponibilité découle directement de la notion de biodisponibilité, définie comme « l'aptitude d'un élément à être transféré d'un compartiment du sol vers un organisme vivant (bactérie, végétal, animal, homme) » (**Baize, 1997**). Ainsi, selon **Hinsinger et collaborateurs (2005)**, est biodisponible pour une plante (= phytodisponible), la fraction d'un élément susceptible d'être absorbée par les racines. Elle est également largement dépendante des propriétés du sol, de l'espèce végétale considérée et de l'élément en question.

La phytodisponibilité va donc dépendre des différents paramètres permettant le transfert de la phase solide du sol vers le végétal (**Hinsinger et al., 2005**) :

- La disponibilité ou mobilité chimique.
- L'accessibilité ou mobilité physique.
- L'assimilation ou mobilité biologique.



**Figure 4** : Interactions au niveau de la rhizosphère entre le sol, la plante et les microorganismes, influençant la phytodisponibilité (modifié d'après **Lombi et al., 2001**).

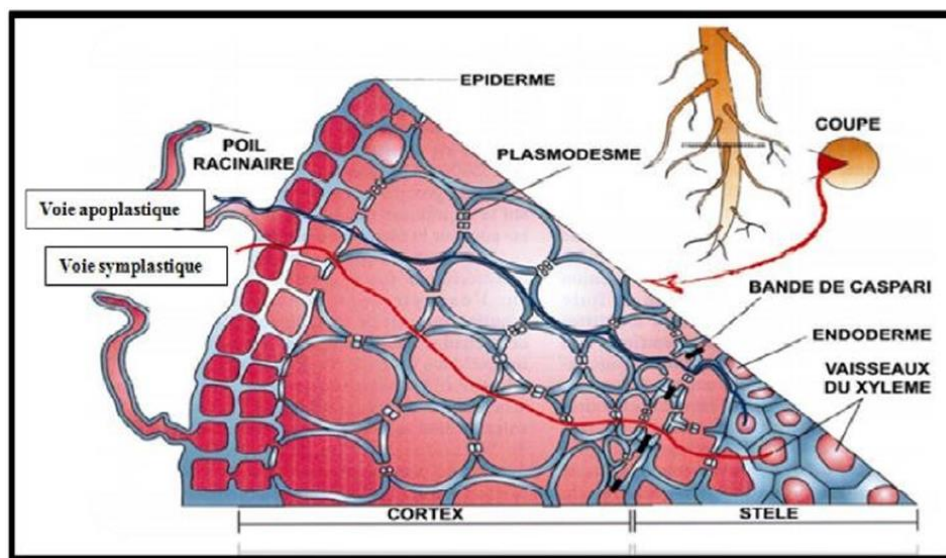
### I.3.2. Transfert du plomb vers la plante

La pénétration d'un élément dans une plante peut être évaluée par le facteur de transfert sol/plante ou également appelé facteur de bioconcentration, noté FBC il représente la possibilité de transfert d'un contaminant du sol vers les plantes, et il est généralement défini comme le ratio entre la concentration dans les plantes et celle dans le sol où ont poussé les plantes, et calculé comme suit (Cui *et al.*, 2004, Zheng *et al.*, 2007).

$$\text{FBC} = [\text{Pb}] \text{ plante} / [\text{Pb}] \text{ substrat de cellule}$$

#### I.3.2.1. L'absorption racinaire

Les plantes peuvent absorber du plomb à partir des racines, mais également à partir des organes aériens, ou bien par l'intermédiaire des deux. Les quantités de métal absorbées par les racines dépendent de la concentration et de la solubilité du métal dans la solution du sol, mais également de ses capacités de migration du sol vers la surface des racines, et de sa translocation des racines vers les feuilles. (Patra *et al.*, 2004 ; Zheng *et al.*, 2007).



**Figure 5** : Trajet des éléments métalliques de la surface des racines jusqu'au cylindre central par voie apoplastique (en bleu) et voie symplastique (en rouge) (Kirpichtchikova, 2009).

### I.3.2.2. Translocation du plomb vers les parties aériennes

Après l'absorption par les racines, la translocation correspond au transfert des ETM vers les parties aériennes. Elle peut varier considérablement en fonction du métal, mais également de l'espèce végétale. Pour être conduits vers les parties aériennes, les éléments prélevés dans le sol par les racines doivent être transportés dans le cortex puis déversés dans les vaisseaux du xylème (par circulation de la sève brute) (**Briat et Lebrun, 1999**).

Pour plupart des espèces, la majorité du plomb absorbé par les plantes réside dans les racines, et seulement une faible proportion est transloquée vers les parties aériennes (**Sharma et Dubey, 2005**). Pour illustrer ce propos, différents auteurs ont défini un facteur de translocation, qui est calculé comme suit (**Tanhan et al., 2007**) :

$$\text{Facteur de translocation} = [\text{Pb}] \text{ partie aérienne} / [\text{Pb}] \text{ racines}$$

### I.3.3. Tolérance et détoxification

#### I.3.3.1. Principaux effets du plomb sur les plantes

Le Pb est un polluant environnemental omniprésent qui peut directement ou indirectement provoquer divers caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques de dysfonctionnements. A faible dose, les premiers effets visibles mais non spécifiques du Pb sur une plante sont l'inhibition de la croissance racinaire, la chlorose des feuilles et un retard de croissance de la plante (**Burton et al., 1984**). A plus forte dose, il peut provoquer la mort cellulaire (**Seregin et Ivanov, 2001**).

##### ➤ Effet sur la germination

Le plomb entraîne des effets néfastes sur les plantes. En premier lieu, la germination est fortement inhibée par les ions  $\text{Pb}^{+2}$  et ce, à de très faibles concentrations (**Mishra and Choudhuri, 1998 ; Wierzbicka and Obidzinska, 1998 ; Tomulescu et al., 2004**). De plus fortes doses conduisent à une inhibition totale de la germination chez les espèces végétales, comme le haricot, dont le tégument de la graine ne limite pas assez la pénétration de ces ions (**Wierzbicka and Obidzinska, 1998**). Le plomb réduit également fortement le développement de la plante et des racines (**Mishra and Choudhuri, 1998**).

➤ **Effet sur la croissance**

L'accroissement de biomasse végétale est diminué par de fortes doses de plomb (**Xionget al.,2006**). Sur de longues durées, les traitements au plomb, même à des doses non- létales, peuvent conduire à l'apparition de nécroses au niveau des apex racinaires et des feuilles, ainsi que des chloroses foliaires (**Liu et al., 2007**).

➤ **Effets sur la nutrition minérale**

Le plomb affecte également la nutrition minérale, en perturbant le prélèvement et le transport des nutriments par la plante, tels que Ca, Fe, Mg, Mn, P et Zn en bloquant leur entrée ou en se liant à eux, les rendant indisponibles pour les plantes (**Xiong, 1997**). Le plomb affecte aussi le métabolisme azoté en diminuant le prélèvement de nitrate et en perturbant le fonctionnement du nitrate réductase (**Seregin et Ivanov, 2001**).

➤ **Effets sur les protéines**

Le plomb présent dans le cytoplasme interagit avec les protéines. L'action du plomb sur la concentration totale en protéine n'est pas claire, bien que de fortes concentrations puissent diminuer le pool protéique (**Jana and Choudhuri, 1982 ; Mohan and Hosetti, 1997 ; Saxena et al.,2003 ; Mishra et al., 2006b**). Cette diminution quantitative de la teneur en protéine totales apparaît comme la résultante de plusieurs conséquences de l'action du plomb, modification de l'expression génique (**Kovalchuk et al., 2005**) et augmentation de l'activité ribonucléasique(**Jana and Choudhuri, 1982 ; Gopal and Rizvi, 2008**), stimulation de l'activité protéasique(**Jana and Choudhuri, 1982**), diminution de la teneur en acides aminés libres (**Xiong et al., 2006**).

➤ **Effet sur la photosynthèse**

L'inhibition de la photosynthèse est un des effets bien connus du Pb sur la plante (**Islam et al.,2008**). Parmi les causes de l'altération de la photosynthèse, on peut citer une augmentation de l'activité de la chlorophyllase et, par conséquent, une dégradation des pigments chlorophylliens, en particulier, de la chlorophylle b qui est plus sensible que la chlorophylle a (**Liu et al., 2009**). Il a été aussi montré qu'il existait une inhibition de la synthèse des pigments chlorophylliens (**Cenkci et al., 2010**).

### I.3.3.2. Mécanismes de détoxication

**Marmioli et collaborateurs (2005)** ont proposé l'idée que les plantes possèderaient deux mécanismes de séquestration/détoxication du plomb :

- l'un constitutif, correspondant à la liaison du plomb aux composants cellulaires ;
- l'autre inductible, correspondant à des molécules pouvant chélater le métal.

#### 1) Mécanismes constitutifs

Il semble très important pour la cellule d'entourer le plomb par ses membranes, en l'isolant du reste du cytoplasme et il est intéressant de noter que la présence de plomb induit une accentuation de ce phénomène. En effet, dans des cellules d'oignon exposées au plomb, **Wierzbicka (1998)** a noté une synthèse accrue de polysaccharides entraînant un épaissement important de la paroi. Cet épaissement permet d'augmenter la taille de la barrière physique que constitue la paroi et de limiter ainsi, l'accès à la membrane plasmique. Il permet également de créer de nouveaux sites de liaisons potentielles au plomb, et par conséquent, d'augmenter la capacité de séquestration extracellulaire.

Le plomb étant un élément nonessentiels, il ne doit pas posséder de canaux spécifiques sur les membranes, et des études ont montré qu'il pourrait emprunter les canaux calciques, **Clemens et collaborateurs (1998)** ont montré que le blocage des canaux calciques entraînait également un blocage du prélèvement du plomb. Donc, le calcium peut inhiber le stress oxydatif provoqué par le plomb (**Pourrut et al., 2008**).

#### 2) Mécanismes inductibles

- **Les phytochélatines**

Le GSH (Glutathion Sulfhydryle) peut jouer un rôle direct dans la chélation du plomb, mais il est également le précurseur des phytochélatines (PC). Ces PC sont des chélateurs intracellulaires, uniquement rencontrés dans les végétaux, qui ont un rôle reconnu en matière de détoxication et d'homéostasie des métaux lourds (**Clemens, 2006b ; Baralkiewicz et al., 2008**).

Les PC, aussi appelées métallothionéines (MT) de classe III, sont des polypeptides atypiques dont la synthèse n'est pas d'origine génétique, mais enzymatique. Leur structure primaire consiste en la répétition d'une séquence dipeptidique,  $\gamma$ -glutamyl-cystéinyl, à laquelle s'ajoute généralement un motif glycine à l'extrémité du carboxyle terminal (Figure 6).



Dans certaines plantes, la glycine peut être remplacée par une sérine (certaines graminées), ou par un acide glutamique (maïs). La structure primaire est répétée  $n$  fois (de 2 à 11), et les PC sont notées PC $n$  en fonction du nombre de répétition. Toutefois, les formes les plus répandues sont celles comprises entre PC2 et PC5 (Zenk, 1996).

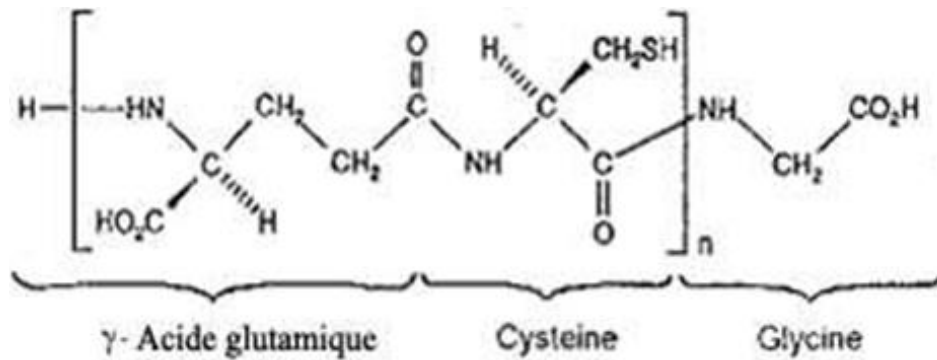


Figure 6 : Structure d'une phytochélatine (Zenk, 1996).

- **Les métallothionéines**

Les métallothionéines (MT) sont des protéines caractérisées par leur richesse en cations métalliques (essentiellement Cu et/ou Zn) et par leur forte proportion de résidus cystéines (environ 30%). Elles se distinguent aussi par leur faible masse moléculaire (6 à 8 kDa et 60 à 75 acides aminés) et par l'absence de résidus aromatiques. Bien que leurs séquences en acides aminés soient très variables d'un organisme à un autre, il semblerait que la structure tridimensionnelle soit bien conservée (Murphy et Taiz, 1995).

Le plomb peut être séquestré par les autres classes de métallothionéines (de classe I et II) présentant des homologies avec les métallothionéines de levure ou humaine (Cobbett et Goldsbrough, 2002). Ces MT, qui ont un rôle fondamental dans la détoxification des ETM chez les animaux, n'ont été que peu étudiées chez les végétaux, en raison du rôle prépondérant que jouent les PC. Xu et collaborateurs (2007) ont révélé que le plomb activait plusieurs gènes de MT de classe I, tandis que Liu et collaborateurs (2007a) ont démontré la capacité de détoxification du plomb par BjMT2, une MT de classe II.

## II. La phytoremédiation

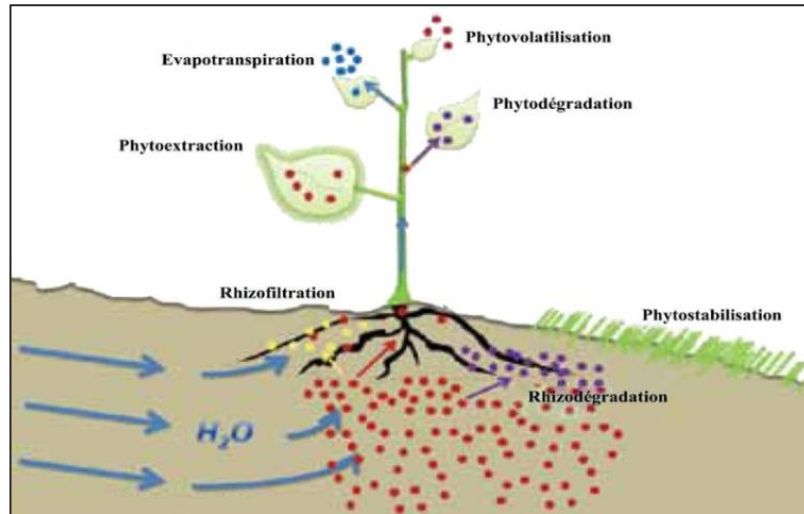
Les nombreux cas de pollution par les métaux lourds génèrent autant de sites contaminés qu'il faut réhabiliter. Les méthodes physico-chimiques de dépollution de ces sites utilisées in situ et ex situ présentent l'inconvénient d'être coûteuses et lourdes à mettre en œuvre (**Gadd, 2000 ; Raskin et al., 1994**). De plus, elles perturbent fortement l'activité biologique des sols et altèrent leur structure physique. Le besoin de nouvelles techniques économiquement compétitives et pouvant préserver les caractéristiques du sol s'est fait sentir et l'utilisation des biotechnologies s'est avérée être une alternative intéressante. 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 : on parle de phytoremédiation (**Salt et al., 1995**).

### II. 1. Histoire de la phytoremédiation

Au 16<sup>ème</sup> siècle, un botaniste de Florence, Andréa Cesalpino, découvre une plante poussant sur des roches naturellement riches en métaux (du nickel notamment). En **1885, Baumann** a identifié pour la première fois deux espèces végétales, *Thlaspi caerulescens* et *Viola calaminaria*, comme étant capables d'accumuler de fortes quantités de zinc dans leurs feuilles. Ensuite, en **1935, Byers** étudia l'accumulation du sélénium chez *Astragalus* spp. Dix ans plus tard, **Minguzzi et Vergnano (1948)** identifièrent des plantes capables d'accumuler jusqu'à 1 % de Ni dans leurs parties aériennes. Aujourd'hui plus de 400 plantes sont connues pour leur capacité d'accumulation des métaux (**Baker et al., 2000**).

### II. 2. Principe de la technique de 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**). Les aspects technologiques d'efficacité, de coût du traitement et les aspects économiques sont abordés. Plus précisément, Les types de stratégies de phytoremédiation, particulièrement utilisés dans la dépollution des métaux lourds sont décrits ci-dessous et illustrés dans la Figure 7.



**Figure 7:** Techniques de la phytoremédiation (Hettiarachchi *et al.*, 2012).

(1) **Phytostimulation** : Les plantes sécrètent des exsudats racinaires qui peuvent être utilisés par les communautés microbiennes et promouvoir leur développement et leurs activités. Cette stimulation microbienne dans la rhizosphère modifie la bioaccumulation, oxydation/réduction biologique et biométhylation des métaux lourds (McGrath, 1998).

(2) **Phytostabilisation** : Utilisation des plantes pour réduire la biodisponibilité des polluants par les écoulements (latéraux ou en profondeur) ou immobiliser les composés polluants en les liants chimiquement par précipitation, stabilisation, absorption ou piégeage de ceux-ci par la plante. Cette technique permet d'éviter la dispersion des polluants dans les eaux de surface et souterraines (Cunningham *et al.*, 1995).

(3) **Phytoextraction** : Utilisation de plantes qui absorbent les métaux lourds dans les sols par les racines, puis transfèrent et accumulent ceux-ci dans leurs parties récoltables (feuilles, tiges et racines). Les métaux lourds vont se complexer avec des acides organiques ou des acides aminés synthétisés par la plante. Les métaux lourds sont ensuite récupérés en incinérant ou compostant la biomasse de plante (McGrath, 1998).

(4) **Phytovolatilisation**: Utilisation de plantes qui absorbent des contaminants organiques et autres produits toxiques, transformant ceux-ci en éléments volatiles peu ou pas toxiques et les relâchant dans l'atmosphère via leurs feuilles (McGrath, 1998).

**Tableau 2:** Caractéristiques de différents procédés utilisés en phytoremédiation.

Procédés de la phytoremédiation	Rhizofiltration	Phytostabilisation	Phytoextraction	Phytovolatilisation	Phytodégradation
Mécanismes	Accumulation, adsorption, précipitation	Complexation, adsorption, précipitation	Accumulation et Hyperaccumulation	Volatilisation	Dégradation rhizosphérique
Type de polluant	Inorganique	Inorganique	Inorganique	Organiques /inorganique (As, Hg, Se)	Organiques (solvants chlorés, herbicides)
Substrats traités	Milieu aqueux	Sols, sédiments, boues	Sols, sédiments, boues	Sols, sédiments, boues	Eaux, sols, sédiments, boues
Plantes utilisées	<i>H. annuus</i> , <i>B. juncea</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>Z. mays</i>	Plantes exclusives ( <i>Agrostis tenuis</i> )	Hyperaccumulatrice ou Accumulatrice à forte biomasse	Plantes modifiées génétiquement	Tout type de plante hébergeant des rhizobactéries
Avantages	Utilisation <i>in situ</i> Et <i>ex situ</i>	Limite le risque de lixiviation et d'érosion Solution rapide	Utilisation <i>in situ</i> Adaptée aux pollutions diffuses	Dilution de la pollution dans l'air Pas de traitement des Déchets végétaux	Pas de traitement des Déchets végétaux
Inconvénients	Dépend du système racinaire	Dépend du système racinaire Nécessite une Surveillance N'élimine pas le polluant du sol	Dépend du système racinaire Retraitement des déchets produits	Le risque d'exposition atmosphérique n'a pas été quantifié Utilisation d'OGM	Limité à des polluants facilement dégradables Dépend des rhizobactéries associées
Références	(Dushenkov <i>et al.</i> , 1995)	(Cunningham et Berti, 2000)	(Garbisu et Alkorta, 2001 ; McGrath et Zhao, 2003)	(Chaney <i>et al.</i> , 1997)	(Black, 1995)

### II . 3. Types de plantes utilisées dans la phytoremédiation

Il existe deux catégories de plantes susceptibles d'intervenir dans les processus de phytoremediation. D'une part, il y a les plantes dites «tolérantes aux métaux», appelées plantes métallocoles ou métalrophytes. Ces plantes sont potentiellement utiles pour la phytostabilisation et la phytovolatilisation ainsi que pour l'étude des mécanismes de tolérance mais leur capacité d'accumulation des métaux dans les parties aériennes est faible (0.005 à 0.05% de la matière sèche). Elles présentent donc peu d'intérêt pour la phytoextraction (**Baker et al., 1997**).

En revanche, il existe des plantes dites « hyperaccumulatrices » (**Brooks, 1998**) qui sont capables de stocker dans les tiges et les feuilles de 10 à 500 fois plus d'éléments métalliques que les autres espèces végétales (Tableau 3).

- 10 µgde Hg/g de MS (matière sèche).
- 100 µg de Cd/g de MS.
- 1000 µg de As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Se/g de MS.
- 10 000 µg de Mn, Zn/g de MS.

A ce jour, il a été recensé plus de 400 taxons de plantes hyperaccumulatrices réparties dans toutes les zones du globe, dont 300 accumulent préférentiellement le Ni. La plupart des espèces utilisées sont des plantes de la famille des Brassicacees (**Ebbs et Kochian, 1997**). Les plus connues sont *Brassicajimcea*, très utilisée pour la décontamination du plomb et du cadmium, *Thlaspi caerulescens* capable d'accumuler le zinc (**Schen et al., 1997 ; Tolraet al., 1996**), le cadmium (**Brown et al., 1995**) dans la partie aérienne avec une concentration de 1000 µg / g MS et le nickel (**Brooks, 1998 ; Schwartz, 1997**) et le genre *Alyssumbertolonii* (**Schickler et Caspi, 1999 ; Shallari, 1997**).

La plupart des plantes hyperaccumulatrices sont caractérisées par une faible biomasse et une croissance lente, ce qui les rend moins efficaces pour une utilisation à grande échelle par rapport aux espèces à forte biomasse (**Baker et al., 2000 ; Reeves et Baker, 2000**).

Tableau 3: Nombre d'espèces hyper accumulatrices (Baker, 2000).

Métal	Concentration (%en matière sèche de feuilles)	Nombre d'espèces	Nombre de familles
Cadmium	>0,01	3	2
Cobalt	>0,1	26	12
Cuivre	>0,1	24	11
Plomb	>0,1	5	3
Manganèse	>1	8	5
Nickel	>0,1	>300	35
Zinc	>1	18	5

Tableau 4: Exemple de plantes hyperaccumulatrices et leur potentiel d'accumulation

Espèce de plante	Métal	Concentration de métal (mg.kg <sup>-1</sup> )	Référence
<i>Thlaspicaerulescens</i>	Zn	1800	Reeves et Brooks (1983)
<i>Thlaspicaerulescens</i>	Cd	39600	Baker et Walker (1990)
<i>Thlaspirotundifolium</i>	Pb	8200	Reeves et Brooks (1983)
<i>Zea mays</i>	Pb	4900	Huang et Cunningham (1996)
<i>Ambrosiaartemissifolia</i>	Pb	24000	Huang et Cunningham(1996)
<i>Ipomeaalpina</i>	Cu	12300	Baker et Walker (1990)
<i>Serbetia acuminata</i>	Ni	25%(WS)	Jaffre <i>et al</i> (1976)
<i>Berkheyacoddi</i>	Ni	5500	Robinson <i>et al</i> (1997)
<i>Arabidopsishalleri</i>	Zn	3000	Zhao <i>et al.</i> (2000)

## II. 4. 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. La phytoextraction utilise des plantes capables de prélever les métaux lourds, de les transférer et de les accumuler dans les parties aériennes qui seront ensuite récoltées (Figure 8).

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. Il existe deux stratégies de phytoextraction, la phytoextraction assistée (induite) et la phytoextraction continue (Salt *et al.*, 1998 ; Cooper *et al.*, 1999).

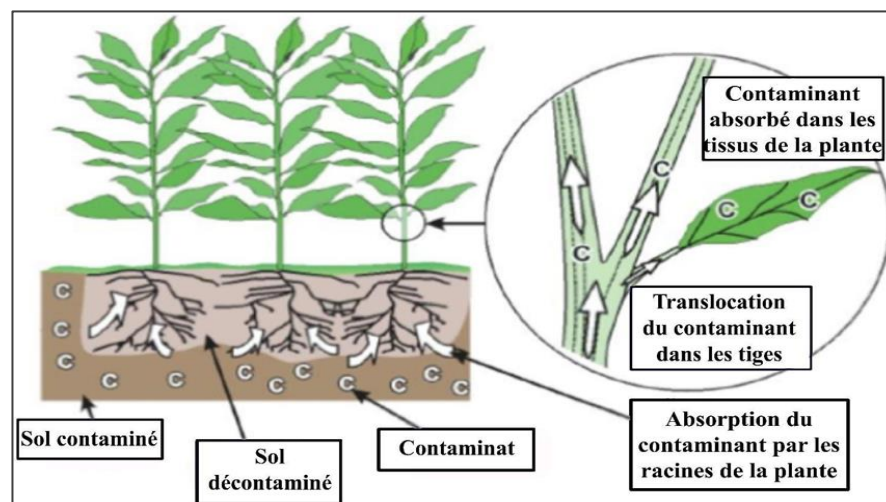
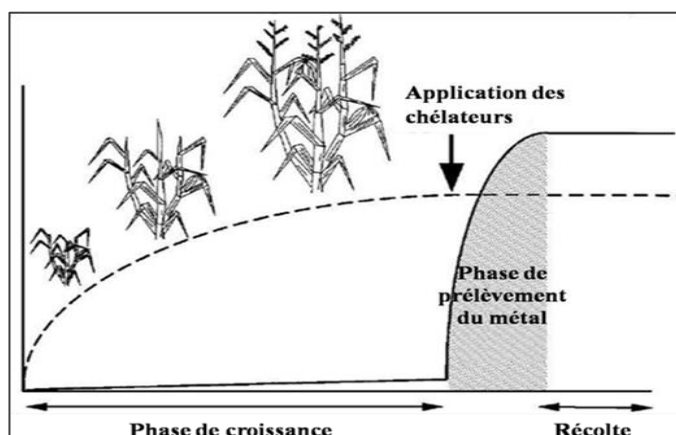


Figure 8: Processus de phytoextraction (ITRC, 2001)

### II. 4.1. Phytoextraction induite

La phytoextraction induite (Figure 9) 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. Les chélateurs des métaux lourds comme EDTA (éthylène diamine tétraacétique) et EDDS (éthylène diamine

disuccinate) pour le plomb, et EGTA (ethyleneglyco-O,O'-bis-[2-amino-ethyl]-N,N,N',N',-tetraaceticacid) pour le cadmium, sont connus pour améliorer la phytoextraction par l'augmentation de la biodisponibilité et de l'accumulation des métaux lourds (Cooper *et al.*, 1999 ; Tandy *et al.*, 2006).



**Figure 9:** Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs (D'après Salt *et al.*, 1998)

#### II. 4.2. Phytoextraction continue

Contrairement à l'absorption induite par des chélateurs, la phytoextraction continue (Figure 10) est basée sur les capacités génétiques et physiologiques des plantes spécialisées dans l'absorption, la translocation et la tolérance des métaux lourds. On parle de « plante hyperaccumulatrice ». Brooks *et al.* (1997) 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 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. Actuellement, environ 400 espèces hyperaccumulatrices ont été répertoriées (Baker *et al.*, 1999).



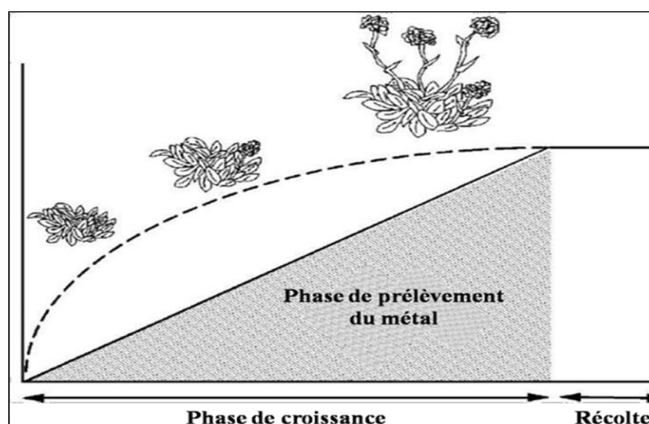


Figure 10: Schéma représentant une phytoextraction continue (D'après Salt *et al.*, 1998).

## II. 5. Avantages et limites de la phytoextraction

### II. 5.1. Avantages

La technique de phytoextraction présente de nombreux intérêts, d'ordre environnemental et économique. En effet, l'activité biologique et la structure des sols sont maintenues après le traitement. 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, les plantes permettent de conserver un paysage agréable (reverdissement et floraison), et aussi d'installer une communauté de microflore et de microfaune métallo-résistantes pouvant agir en synergie avec ces plantes afin d'accélérer le processus de décontamination. Les plantes peuvent être facilement surveillées et récoltées à des fins de traitement et la biomasse végétale réutilisée (Kumaret *al.*, 1995 ; Raskinet *al.*, 1997 ; Blaylock et Huang, 2000 ; Garbisu et Alkorta, 2001).

### II. 5.2. Limites

Cependant comme d'autres techniques de dépollution, la phytoextraction comporte des désavantages. Cette idée a été initialement introduite par Baker *et al.*, (1989). Malheureusement, la majorité des plantes hyperaccumulatrices présentent une faible production de biomasse et une vitesse de croissance lente demandant un investissement en temps assez important, et/ou en argent avec l'adjonction de chélateurs ou autres substances « starter ». La concentration et le type de métaux lourds influencent la phytotoxicité, et dans certains cas, la croissance des plantes peut être réduite (Shah *et al.*, 2007 ; Salt *et al.*, 1998 ; Singh *et al.*, 2003). La transformation par génie génétique des plantes sensibles à forte production de biomasse en plantes hyperaccumulatrices pourrait également être

envisagée. Pour cela, il est nécessaire de comprendre les mécanismes biochimiques et moléculaires intervenant dans la réponse de la plante survenant lors d'un stress aux métaux lourds (**Kärenlampiet al., 2000**).

## **II.6. Utilisation des biotechnologies pour la phytoremédiation**

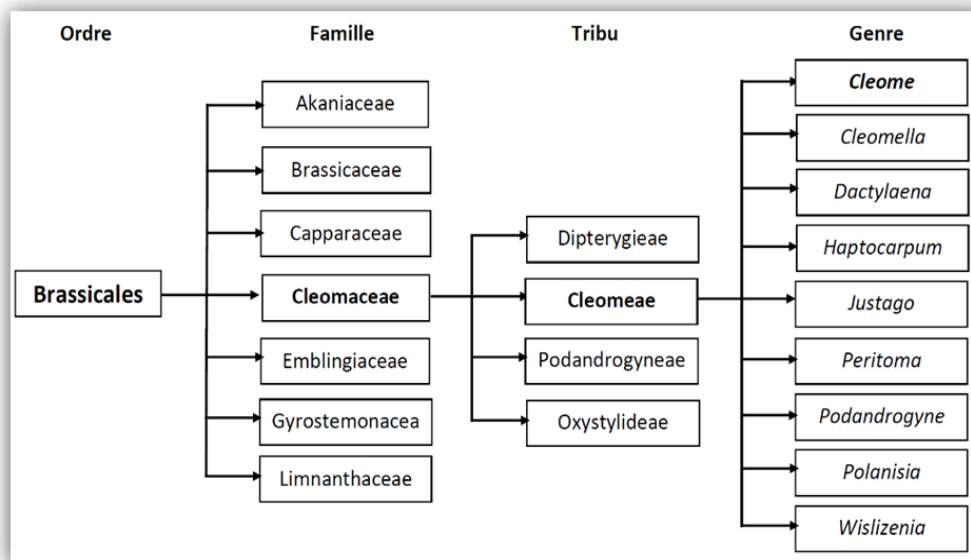
Les biotechnologies appliquées à la phytoremédiation sont surtout mises en œuvre au Canada et aux États-Unis (**Ben Ghnaya et al., 2006**). Comme les espèces hyperaccumulatrices sont généralement petites et à croissance lente, le génie génétique cherche à introduire des gènes hyperaccumulateurs dans des espèces à croissance rapide et biomasse importante, ou des gènes de croissance (ou des techniques d'amélioration variétale) au sein d'espèces hyperaccumulatrices (**Angle et Linacre, 2005 ; Ben Ghnaya et al., 2006**).

La première option est la plus exploitée jusqu'ici, et des espèces transgéniques aux propriétés extractives améliorées ont déjà été développées pour l'arsenic, le sélénium et le plomb (**Pilon-Smith et al., 1999 ; Schat et al., 2000 ; Dhankher et al., 2002 ; Angle et Linacre, 2005**). Des biotechnologies bactériennes sont à l'étude à des fins d'immobilisation des métaux lourds (**Lorenzo et al., 2000**). Leur principe est de combiner des protéines fixatrices d'ions métalliques (métallothioïnes), dont le cuivre et le zinc, à des bactéries pouvant se développer dans des sols contaminés. Des essais in situ concluants ont déjà été effectués, où la toxicité des sols pour les plantes a été fortement réduite après l'inoculation de bactéries modifiées fixatrices de cadmium. A plus long terme, la technique pourrait être utilisée en combinaison avec la phytostabilisation (**Lorenzo et al., 2000**).

### III. *Cleome amblyocarpa*

#### III. 1. Systématique

Les Cleomaceae sont une petite famille de l'ordre des Brassicales, comprenant plus de 300 espèces appartenant à 17 genres selon l'APG III dont: *Cleome*, *Cleomella*, *Dactylaena*, *Haplocarpum*, *Justago*, *Peritoma*, *Podandrogyne*, *Polanisia* et *Wislizenia* (Aparadh *et al.*, 2012) Autre fois rattachées au Capparaceae, les plantes de la famille des Cleomaceae se trouvent dans les régions tropicales et tempérées.



**Figure 11:** Arbre de phylogénie botanique du genre *Cleome* (Aparadh *et al.*, 2012)

#### III. 2. Genre Cléome

Le genre *Cleome* est le plus représenté dans cette famille avec 180 à 200 espèces qui sont des sources importantes de médicaments traditionnels, de plantes alimentaires et utilisées pour d'autres usages (Aparadh *et al.*, 2012).

Ces plantes sont largement distribuées et la majeure partie est limitée aux régions tropicales, où on peut y trouver environ 150 espèces, en particulier en Asie du Sud-Ouest (Aparadh *et al.*, 2012 ; Raghavan *et al.*, 1993). Il s'agit de plantes herbacées annuelles ou vivaces. Les tiges sont pas ou peu ramifiées, glanduleuses pubescentes ou glabres. Les feuilles sont simples ou palmatilobées comprenant entre 3-11 folioles. Les stipules sont absentes ou écailleuses.

Les fleurs sont zygomorphes à sépales persistants soudés à la base. Les pétales sont égaux. On compte de 4 à 6 étamines libres. L'ovaire est supère et uniloculaire. Les fruits sont des capsules allongées déhiscentes par 3 valves, et contiennent de 4 à 25 graines réniformes ou ovoïdes (Tucker *et al.*, 2010).

### III. 3. Description de *Cleome amblyocarpa* Barr.&Murb

Le *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb est une espèce saharienne spontanée qui s'adapte aux conditions climatiques et édaphiques de l'environnement désertique.

C'est une plante vivace, de la famille des Capparidaceae ramifiée, vert jaunâtre, de 10 à 40 cm de haut, à l'odeur fétide et désagréable. Tiges droites, feuilles trifoliolées. Feuilles lancéolées, fleurs pourpres et grand nombre de fruits dans des capsules allongées et poilues (Ozenda, 1991 ; Quezel et Santa., 1963).

Le "Netile" est considéré par les nomades comme une plante toxique provoquant des troubles nerveux (Le Floch, 1983), c'est aussi une plante médicinale utilisée pour soulager la douleur. Mélangée à *Juniperus phoenicia*, *Hammada scoparium*, elle traite les maux de tête, et mélangée à *Artemisia herba-alba*, elle devient un traitement contre les nausées, les gastralgies, les vomissements et les coliques (Molino, 2005). L'activité anti-inflammatoire de l'extrait de feuille de *C. amblyocarpa*, observée in vivo comme in vitro, pourrait être due à sa forte teneur en flavonoïdes (19%) (Bouriche *et al.*, 2003; Bouriche et Arnhold, 2010).



**Figure 12:** plante *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.  
([http://www.floraofqatar.com/cleome\\_amblyocarpa.htm](http://www.floraofqatar.com/cleome_amblyocarpa.htm))

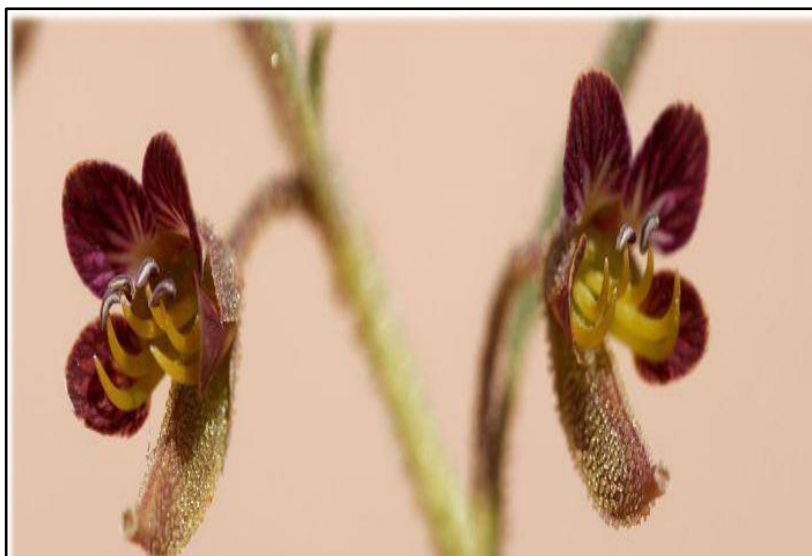


**Figure 13:** Gousses de *Cleome amblyocarpa*.



**Figure 14:** Graines de *Cleome amblyocarpa*.

(<http://atlas-sahara.org/index/liens/liens.html>)



**Figure 15 :** Fleures de *Cleome amblyocarpa*.

(<http://atlas-sahara.org/index/liens/liens.html>)

### III. 4. Propriétés biologiques

#### III. 4.1. Usages en médecine traditionnelle

En Inde, *Cleome chelidoni* est utilisée contre les rhumatismes, comme antalgique (maux de tête, otite) et antipyrétique (Parimalakrishnan *et al.*, 2007), dans le traitement de la colique, la dysenterie (Kirtikar et Basu., 1987). Elle possède également des propriétés bénéfiques contre les maladies de la peau et comme vermifuge (Chopra et Nayar., 1992).

#### III. 4.2. Usage ethnobotanique

Agent Sédatif ; analgésique ; traitement gastrique ; anticolique ; anti-grippe ; anti-vomissement; agent diurétique; contre les douleurs névralgiques; contre les douleurs rhumatismales; agent hallucinogène; anti-inflammation; anti-gale; contre la fièvre rhumatismale; traitement des maladies du foie; contre la diarrhée; cicatrisant. (UNICER, 2005; Baba Aissa, 2011).

#### III. 4.3. Activités biologiques

Plusieurs recherches scientifiques s'intéressaient à étudier les propriétés biologiques et pharmacologiques des espèces du genre *Cleome*, le tableau 5 récapitule la majorité des activités liées aux différentes espèces de *Cleome* y compris la *Cleome arabica* (Madi, 2018).



Tableau 5: Les activités biologiques du genre Cleome (Madi, 2018).

Espèce	Activités biologiques	Référence
<i>Cleome rutidosperma</i>	Activité antalgique; Activité anti-inflammatoire; Activité antipyrétique.	Bose <i>et al.</i> , 2007
<i>Cleome paradoxa</i>	Activité Anti diabétique	Abdel-Sattar <i>et al.</i> , 2009
<i>Cleome iberica</i>	Activité Antimicrobienne; Activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses; Activité antioxydante (DPPH)	Farimani <i>et al.</i> , 2016
<i>Cleome viscosa</i>	Activité antalgique; Activité antipyrétique; Activité antimicrobienne ; Anti-diarrhée ; Effet anti émétique Effet hépato-protecteur.	Parimala <i>et al.</i> , 2003; Sudhakar <i>et al.</i> , 2006; Parimala., 2002; Gupta & Dixit., 2009; Ahmed <i>et al.</i> , 2011
<i>Cleome rosea</i>	Inhibition de la production d'oxyde Nitrique (NO); Effet antioxydant en protégeant le DNA plasmide	Simoes <i>et al.</i> , 2006
<i>Cleome droserifolia</i>	Effet hypoglycémiant ; Activité anti-athérogène; Activité anti-microbienne ; Effet diurétique ; Effet hépato-protecteur; Effet relaxant; Effet antihistaminique.	Wang & Ng., 1999; Khafagi & Dewedar., 2000; Fushiya <i>et al.</i> , 1999 ; Abdel-Kawy <i>et al.</i> , 2000; El-Shenawy., 2006 ; Abdel-Kader., 2009
<i>Cleome arabica</i>	Activité antagoniste ; Activité antifongique ; Effet allélopathique; Activité anti-inflammatoire ; Antialimentation; Effet insecticide; Effet anti-hypercholestérolémique ; Activité anti cancéreuse	Goudjala <i>et al.</i> , 2014 Ladhari <i>et al.</i> a & b., 2013 Bouriche <i>et al.</i> , 2005 ; Samout <i>et al.</i> , 2015 Tigrine <i>et al.</i> , 2013
<i>Cleome gynandra</i>	Inhibition de la production des ROS (sous condition de stress) ; Activité anticancéreuse; Activité antioxydante (piégeage des radicaux libres) ; Activité anti-inflammatoire.	Uzilday <i>et al.</i> , 2012 ; Bala <i>et al.</i> , 2012 ; Moyo <i>et al.</i> , 2013 ; Narendhirakannan <i>et al.</i> , 2007
<i>Cleome africana</i>	Activité antioxydante (piégeage du Radical libre ABTS)	Tawaha <i>et al.</i> , 2007
<i>Cleome turkmena</i>	Activité antioxydante ; Activité antibactérienne; Activité antifongique	Farjam <i>et al.</i> , 2014
<i>Cleome felina</i>	Activité anticancéreuse	Joseph <i>et al.</i> , 2014

*Etude  
expérimentale*











































## IV. Matériels et Méthodes

### IV.1. Objet du travail

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet du stress par le plomb durant deux semaines d'exposition à différentes doses (0, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 ppm) (Tableau 6) sur les paramètres biochimiques du *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb., planté dans un sol pollué par le plomb afin de déterminer le potentiel phytoremédiateur de cette espèce.

**Tableau 6 :** Dispositif expérimental.

Doses (ppm) Répétitions	0 Témoin	250	500	1000	1500	2000	2500	3000
R1								
R2								
R3								
R4								
R5								

### IV.2. Site expérimental

Le travail est réalisé dans une serre semi-automatique située à l'université d'Oran 1 Es Senia dont les facteurs climatiques (température, humidité, ensoleillement ...) sont favorables à la croissance de la plante étudiée.



### IV.3.1.2. Site de collecte des graines

Les grains de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb., ont été récoltés depuis le mois de juin 2018, en provenance de la wilaya d'EL BAYADH situé au (33°54'54.21''N, 0°12'20'59''E; Sud-Est d'Algérie), dans les hautes plaines steppiques du Sud-Ouest algérien (Figure 18).



Figure 18 : Site de collecte des semences (Bennaoum *et al.*, 2019).

### IV.3.2. Matériel sol

#### IV.3.2.1. Substrat de culture

Le substrat utilisé correspond à un mélange du sol et du terreau industriel à des proportions respectives de (95 % sol/ 5% terreau). Le sol constituant le substrat de culture a été prélevé de la ferme expérimentale de Mazagran. Ce sol est tamisé avec un tamis de 2 mm pour éliminer les déchets animaux et végétaux, puis séché à l'air libre puis homogénéisé avec le terreau.

### IV.4. Méthodes

#### IV.4.1. Préparation des graines

La stérilisation des graines est effectuée au laboratoire de biodiversité et de conservation des sols et des eaux de l'université de Mostaganem (UMAB). Les graines de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb., sont désinfectées avec l'hypochlorite de sodium à 08° pendant 10 minutes pour éliminer toute contamination fongique puis rincées abondamment à l'eau distillée 2 fois pour éliminer toute traces de l'hypochlorite de sodium, elles ont été, elles ont été séchées avant la mise en germination.

#### IV.4.2. Germination

La germination des graines du *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb est réalisé dans une serre semi-automatique située à l'université d'Oran El Senia. Les graines sont semées dans des alvéoles en plastique remplis de terreau pendant 30 jours.

#### IV.4.3. Préparation des pots et Repiquage

Après un mois de germination, les plantules sont repiquées dans des pots en plastique. Ils ont un diamètre supérieure de 22 cm et inférieur de 13cm avec une profondeur de 17 cm, ils ont remplis par une quantité de 4 kg de mélange sable et terreau (95 % sol/ 5% terreau). Le fond des pots est recouvert de gravier pour assurer un bon drainage (figure 19).



Figure 19 : Préparation des pots

#### IV.4.4. Application du stress

Le plomb est utilisé sous forme de solution de nitrate de plomb  $Pb(NO_3)_2$  à des concentrations différentes (0, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 ppm) et pour chaque traitement 05 répétitions sont réalisées. Les plantes sont stressées pendant 15 jours à raison d'une fois par semaine en respectant la capacité de rétention. Les plantes stressées sont arrosées deux fois par semaine : une fois avec la solution nutritive Actifeg et une fois avec la solution de nitrate de plomb et les plantes témoin sont arrosées avec l'eau distillée.





**Figure 20** : Plantes de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb après 45 jours de culture.

#### IV.4.5. Récolte des plantes

A la fin de l'expérimentation, après 15 jours d'exposition au stress par le plomb, les plantes sont séparées de leurs substrat (Figure 21), puis rincées soigneusement à l'eau de robinet, après séchées sur des papiers filtre. Chaque plante est enveloppées dans des papiers sulfurées puis dans des papiers d'aluminium (Figure 22) pour les séchées à 80°C pendant 48 h et après broyées et conservées sous forme de poudre dans des tube étiqueté.



**Figure 21** : Récolte des plantes.



**Figure 22** : Plantes *Cleome amblyocarpa* dans des papiers d'aluminium.

#### IV.4.6. Paramètres étudiés

##### IV.4.6.1. Dosage de la chlorophylle

L'extraction de la chlorophylle **a** et **b** est réalisée selon la méthode de **Lichtenthaler (1987)** et **Shabala et al. (1998)**.

Les concentrations de la chlorophylle « **a** », de la chlorophylle « **b** » sont effectués à l'aide d'un spectrophotomètre à UV à des densités optiques respectives de 663 nm et 645 nm.

Les concentration en chlorophylle a, b, totale et en caroténoïdes / xanthophylle, exprimer en mg.g-1 MF, sont calculer par les équations de (**Wang et al., 2010**) :

$$\text{Chlo a} = 12.25 \times A(663) - 2.79 \times A(645)$$

$$\text{Chlo b} = 21.50 \times A(645) - 5.10 \times A(663)$$

$$\text{Chlorophylle totale} = 7.50 \times A(663) + 18.71 \times A(645).$$

##### IV.4.6.2. Dosage des sucres solubles totaux

Les sucres solubles totaux sont dosés par la méthode de **Dubois et al. (1956)**.

La densité optique est lue à une longueur d'onde de 585 nm. Les valeurs obtenues sont converties en teneur de sucres solubles à partir de la courbe d'étalonnage.

##### IV.4.6.3. Dosage des protéines totales

La technique utilisée pour le dosage des protéines totales est celle de **Bradford (1976)** qui utilise le BSA (le sérum d'albumine de bovin) comme standard.

Le dosage se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde 595 nm. La quantité des protéines totales est déterminée à partir de l'équation suivante existant dans la courbe d'étalonnage.

$$Y = 0,341X + 0,004$$

Y : valeur de l'absorbance

X : quantité des protéines totales (mg.g-1)

#### IV.4.7. Analyse statistique

Tous les résultats obtenus ont été soumis à une analyse de logiciel R version 4.1.0. (27/06/2021).

## V. Résultats et discussion

### V.1. Résultats

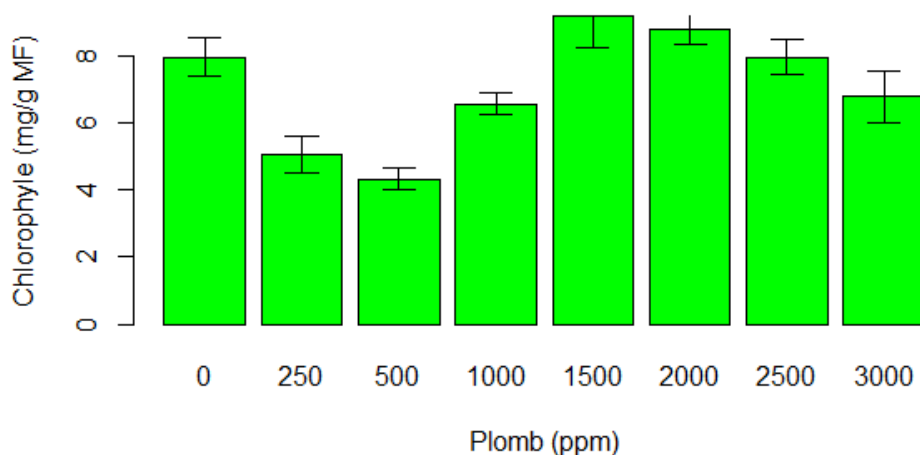
#### V.1.1. Teneur en chlorophylle a, b et totale des feuilles de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb

Les figures 24, 25 et 26 représentent la teneur en chlorophylle de l'espèce étudiée *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb., stressée par le plomb durant deux semaines d'exposition à différentes doses (0, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 ppm).

##### V.1.1.1. Teneur en chlorophylle a

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en chlorophylle **a** des plantes traitées aux doses 250, 500 et 1000 ppm est plus faible (Chlo **a** < 08mg/g MF) par rapport aux plantes témoins.

L'application de plomb aux doses 1500, 2000 et 2500 ppm entraîne une augmentation notable des teneurs en chlorophylle **a** (Chlo **a** > 11 mg/g MF) avec une diminution progressive des teneurs au fur et à mesure que les doses augmentaient jusqu'à 3000 ppm (Figure 23).



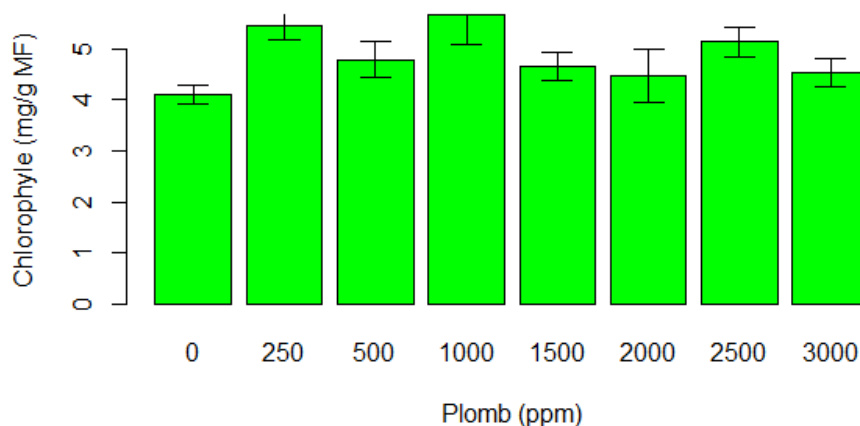
**Figure 23** : Teneur en chlorophylle **a** (mg/g MF) des feuilles de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

**Tableau 7 :** Teneur en chlorophylle **a** (mg/g MF) des feuilles de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

Doses (ppm) / Répétitions	0 Témoin	250	500	1000	1500	2000	2500	3000
<b>R1</b>	9,045	5,541	3,174	6,484	11,499	7,999	7,640	8,626
<b>R2</b>	8,174	5,567	5,089	7,335	10,039	10,379	7,807	6,487
<b>R3</b>	6,357	3,321	4,500	7,061	6,173	8,911	7,696	6,476
<b>R4</b>	6,944	6,538	4,199	5,605	8,134	7,998	6,674	7,999
<b>R5</b>	9,224	4,275	4,665	6,329	9,953	8,536	9,862	4,206

### V.1.1. 2. Teneur en chlorophylle **b**

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en chlorophylle **b** sont relativement élevées pour les plantes traitées aux doses 250, 1000 et 2500 ppm (Chlo **b**  $\geq$  05 mg/g MF) comparativement à celle des plantes témoins (Chlo **b**  $\geq$  04 mg/g MF). Nous enregistrons également des teneurs relativement similaires pour les doses 500, 1500, 2000 et 3000 ppm (Chlo **b**  $\geq$  4 mg/g MF) (Figure 24).



**Figure 24 :** Teneur en chlorophylle **b** (mg/g MF) des feuilles de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

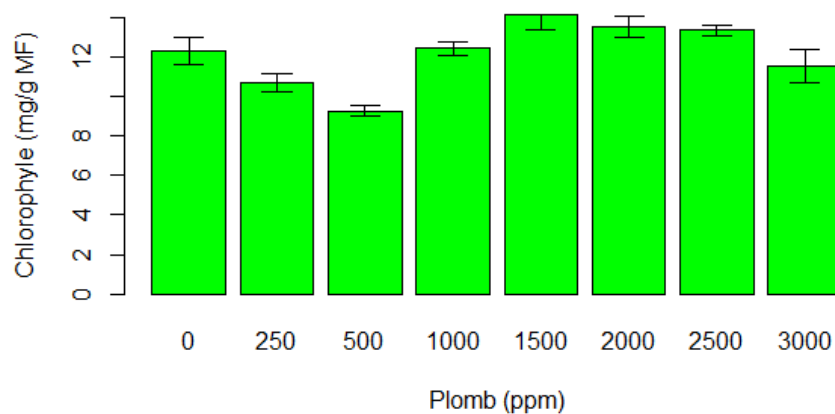


**Tableau 8** : Teneur en chlorophylle **b** (mg/g MF) des feuilles de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb

Doses (ppm) Répétitions	0 Témoin	250	500	1000	1500	2000	2500	3000
<b>R1</b>	4,031	6,086	5,634	5,938	4,650	6,432	5,212	4,314
<b>R2</b>	4,163	4,665	4,627	5,000	4,349	4,079	5,001	5,021
<b>R3</b>	3,428	6,082	4,553	4,586	5,681	3,578	5,433	5,344
<b>R4</b>	4,621	4,925	5,472	7,754	4,620	4,656	5,899	4,114
<b>R5</b>	4,288	5,542	3,671	5,019	3,998	3,639	4,131	3,903

### V.1.1. 3. Teneur en chlorophylle totale

Les résultats obtenus montrent que la teneur en chlorophylle **totale** diminue pour les plantes traitées avec les doses 250 et 500 ppm (Chlo **totale**  $\leq 11,5$  mg /g MF). La teneur en chlorophylle **totale** est importante chez les plantes stressées à 1500 ppm de Pb (Chlo **totale** = 16,51 mg/g MF) puis diminue progressivement pour les plantes traitées avec des doses plus élevées (Figure 25).

**Figure 25** : Teneur en chlorophylle **totale** (mg/g MF) des feuilles de La *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

**Tableau 9** : Teneur en chlorophylle totale (mg/g MF) des feuilles de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

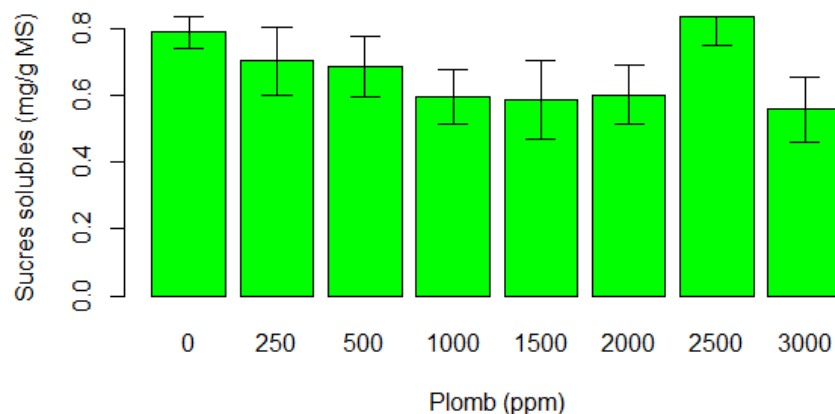
Doses (ppm) Répétitions	0	250	500	1000	1500	2000	2500	3000
	Témoin							
<b>R1</b>	13,36	11,82	8,93	12,64	16,51	14,70	13,10	13,22
<b>R2</b>	12,60	10,42	9,89	12,58	14,71	14,79	13,06	11,72
<b>R3</b>	9,99	9,53	9,21	11,88	12,06	12,77	13,38	12,04
<b>R4</b>	11,79	11,68	9,82	13,56	13,02	12,91	12,80	12,37
<b>R5</b>	13,81	9,97	8,49	11,56	14,27	12,45	14,31	8,25

#### V.1.1. 4. Discussion

Les résultats obtenus concernant les teneurs en chlorophylle **a**, **b** et **totale** montrent qu'il existe des teneurs élevées en chlorophylle même à fortes doses de plomb, Cela indique qu'il n'y a pas d'effet significatif sur la synthèse de la chlorophylle en fonction des doses de plomb utilisées dans ce travail. Les résultats ont montré que les teneurs en chlorophylle les plus élevées enregistrées aux doses 1000 et 1500 ppm puis ont commencées à diminuer progressivement jusqu'à ce que la dose la plus élevée (3000 ppm), et jusqu'à ce niveau de stress appliqué par le plomb, les teneurs en chlorophylle restent élevées dans la plupart des plantes expérimentées comparativement à celle des plantes témoins.

#### V.1.2. Teneur en sucres solubles des feuilles de *La Cleome amblyocarpa* stressée au plomb

Les résultats obtenus concernant les teneurs en protéines des parties aériennes des plantes de *Cleome amblyocarpa* sous stress métallique, ont montré une diminution des teneurs en sucres solubles des plantes exposées aux doses 250, 500, 1000, 1500, 2000 et 3000 ppm ( $\leq 0,8$  mg/g MS) comparativement à celle des plantes témoins et nous avons enregistré une augmentation significative à la dose 2500 ppm (1,098 mg/g MS) (figure 26).



**Figure 26 :** Teneur en sucres solubles (mg/g MS) des feuilles de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

**Tableau 10 :** Teneur en sucres solubles (mg/g MS) des feuilles de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

Doses (ppm) Répétitions	Doses (ppm)							
	0 Témoin	250	500	1000	1500	2000	2500	3000
<b>R1</b>	0,906	0,844	0,636	0,639	0,614	0,371	0,843	0,931
<b>R2</b>	0,676	0,931	0,898	0,618	0,360	0,554	1,098	0,473
<b>R3</b>	0,859	0,763	0,806	0,488	0,288	0,729	0,569	0,367
<b>R4</b>	0,808	0,641	0,384	0,375	0,790	0,487	0,835	0,522
<b>R5</b>	0,677	0,339	0,705	0,856	0,892	0,874	0,832	0,496

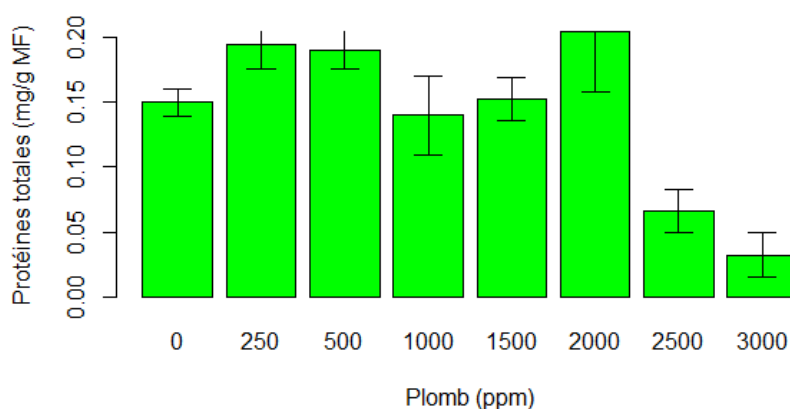
### V.1.2. 2. Discussion

Les résultats obtenus ont montré une augmentation significative des teneurs en sucres à la dose 2500 ppm (1,098 mg/g MS) comparativement à celle des plantes témoins (0,906 mg/g MS) et cela montre que cette accumulation importante des sucres solubles dans les plantes stressées au plomb est une réponse au stress métallique, ce qui est évident à partir de dose 2500 ppm.

### V.1.3. Teneur en protéines totales

#### V.1.3.1. Teneur en protéines totales des parties aériennes de la *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb

Les résultats obtenus, qui concernent les teneurs en protéines pour les parties aériennes des plantes de *Cleome amblyocarpa*, ont montré une diminution significative des teneurs en protéines, à partir de la dose 2500 ppm, après avoir atteint sa valeur la plus élevée à la dose 2000 ppm (figure 27).



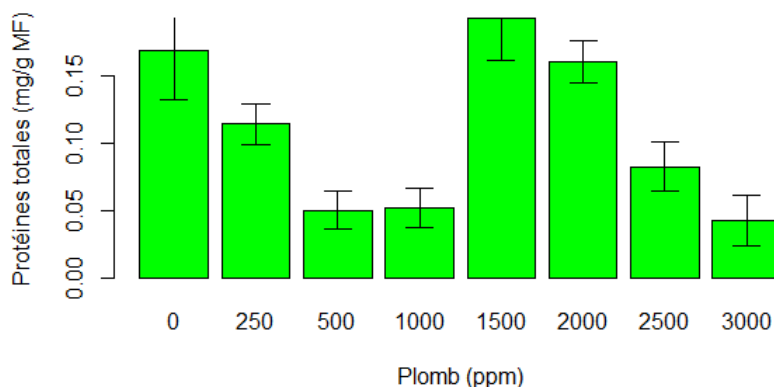
**Figure 27 :** Teneur en protéines totales (mg/g MF) des parties aériennes de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

**Tableau 11 :** Teneur en protéines totales (mg/g MF) des parties aériennes de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

Doses (ppm) Répétitions	0	250	500	1000	1500	2000	2500	3000
	Témoin							
<b>R1</b>	0,129	0,194	0,196	0,220	0,158	0,355	0,047	0,000
<b>R2</b>	0,173	0,199	0,202	0,176	0,182	0,126	0,094	0,000
<b>R3</b>	0,185	0,258	0,232	0,082	0,103	0,284	0,029	0,088
<b>R4</b>	0,144	0,150	0,144	0,161	0,191	0,135	0,117	0,047
<b>R5</b>	0,135	0,173	0,185	0,059	0,129	0,135	0,035	0,018

**V.1.3.2. Teneur en protéines totales des parties racinaires de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb**

Les résultats obtenus pour les parties racinaires des plantes, ont montré une diminution significative des teneurs en protéines totales à la dose 500 et 1000 ppm puis une augmentation à la dose 1500 et 2000 ppm pour revenir à la baisse et atteindre sa valeur la plus basse à la dose 3000 (figure 28).



**Figure 28 :** Teneur en protéines totales (mg/g MF) des parties racinaires de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb

**Tableau 12 :** Teneur en protéines totales (mg/g MF) des parties racinaires de *Cleome amblyocarpa* stressée au plomb.

Doses (ppm) Répétitions	Doses (ppm)							
	0 Témoin	250	500	1000	1500	2000	2500	3000
<b>R1</b>	0,150	0,124	0,035	0,009	0,136	0,141	0,031	0,073
<b>R2</b>	0,074	0,131	0,030	0,049	0,241	0,122	0,067	0,014
<b>R3</b>	0,208	0,150	0,060	0,044	0,287	0,212	0,144	0,030
<b>R4</b>	0,135	0,109	0,022	0,063	0,139	0,160	0,101	0,099
<b>R5</b>	0,278	0,064	0,099	0,102	0,151	0,168	0,072	0,004

**V.1.3.3. Discussion**

Les résultats de la présente étude ont montrés une augmentation de teneur en protéines totales chez *Cleome amblyocarpa* aux doses de 1500 et 2000 ppm comparativement à celle des plantes témoins, Cette accumulation protéique pourrait être la conséquence de la synthèse par la plante de protéines de défense contre ce stress métallique (**Gupta et al., 2010**), avec notamment des protéines intervenant dans le maintien du statut redox de la cellule comme l'ascorbate, ou dans la séquestration du métal (GSH, PC) (**Brunet et al., 2009 ; Liu et al., 2009 ; Yadav, 2010 ; Jiang et Liu, 2010**).

La diminution du taux de protéines est remarquée dans les racines plus que les feuilles de la plante à partir de la dose 2500 ppm et cela est dû au fait que les protéines sont particulièrement sensibles à l'action des ROS. Les ROS sont aussi capables de couper les liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques (**Kocchlin-Ramonatxo, 2006**).

# *Conclusion*

## Conclusion

Les résultats obtenus dans le cadre de la présente étude ont révélé les principaux effets de la contamination par le plomb sur les paramètres biochimiques de *Cléome amblyocarpa* Barr.&Murb., Les différents paramètres biochimiques testés sur les plantes ont permis de montrer, que le plomb induit des effets délétères sur la partie aérienne et aussi au niveau des racines.

Les résultats obtenus ont montré que la chlorophylle **b** chez *Cléome amblyocarpa* Barr.&Murb., s'accumule moins par rapport au chlorophylle **a**, aussi bien pour les témoins que pour les plantes stressées. L'accumulation de la chlorophylle **a**, **b** et **totale** est significativement augmentée à des doses élevés (1000, 1500, 2000 et 2500 ppm) comparativement à celle des plantes non stressées, cela indique que les doses utilisées dans l'expérience, même la plus élevée (3000 ppm) , n'ont aucun effet négatif sur l'accumulation de chlorophylle.

L'application de stress métallique par le plomb sur la plante de *Cléome amblyocarpa* Barr.&Murb., a entraîné une augmentation des sucres solubles en fonction de la concentration croissante du plomb, l'accumulation des sucres solubles est très importante chez les plantes stressée comparativement aux plantes non stressées.

La réponse protéique des plantes de *Cléome amblyocarpa* Barr.&Murb., au stress au plomb varie selon l'organe et l'intensité du stress. Les analyses des protéines totales à l'aide de la méthode de **Bradfort (1976)** montrent que l'accumulation des protéines totales s'effectue principalement aux niveaux des feuilles sous les différents traitements métalliques. Les racines présentent toujours des teneurs en protéines totales remarquablement inférieures à celles des parties aériennes. L'augmentation de l'intensité du stress par le plomb induite des effets délétères sur les teneurs en protéines totales.

Les résultats trouvés suggèrent que la plante de *Cléome amblyocarpa* Barr.&Murb., peut être utilisée dans un système de dépollution des sols car elle possède des propriétés particulières de résistance naturelle à de nombreuses contraintes abiotiques. Un tel travail ouvre de multiples perspectives qui consistent à développer notre recherche par l'étude des autres conditions liées aux conditions édaphiques du milieu, et la translocation du plomb dans les différentes parties de la plantes. Enfin, le passage à une culture sur sol pollué dans les conditions naturelles permettrait d'étudier les capacités de *Cléome amblyocarpa* Barr.&Murb., à extraire le plomb présent dans le sol.



*Références  
bibliographiques*

**Allaway BJ. 1995.** Heavy Metals in Soils. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London, p 368.

**Angle S, Linacre N. 2005.** Metal phytoextraction. A survey of potential risks, International Journal of Phytoremediation. 7, 241-254.

**Aparadh VT, Mahamuni RJ AndKaradge BA. 2012.** Taxonomy and Physiological Studies in Spider Flower (Cleome species): A Critical Review. Plant Sciences Feed, 2(3), pp 25- 46.

**Baba Aissa F. 2011.** Encyclopédie des plantes utiles. El maarifa (Ed) Alger, 471.

**Baize D. 1997.** Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols. Références et stratégies d'interprétation. Editions INRA. Paris. France, p 408.

**Baker AJM, McGrath SP, Reeves RD, Smith JAC. 2000.** Métal hyper- accumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In N Terry, G Banuelos, eds, Phytoremediation of contaminated soil and water. Lewis Publishers CRC, Boca Raton. 85-107.

**Baker AJM, McGrath SP, Reeves RD, Smith JAC. 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.

**Baker AJM, and Walker PL. 1990.** Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Shaw, J. (Ed.). Heavy Metal Tolerance in plants: Evolutionary aspects. CRC Press, Boca Raton, Florida, 155-178.

**Baker AJM, and Brooks RR. 1989.** Terrestrial higher plants which hyper accumulate metallic elements – Review of their distribution, ecology, and photochemistry. Biorecovery 1, 81-126.

**Baralkiewicz D, Kozka M, Kachlicki P, Piechalak A et Tomaszewska B. 2008.** Analysis of oxidized and reduced phytochelatin in pea and lupin plants using HPLC/MS n. Int J Environ Anal Chem. 88: 979-988.

**Ben Ghnaya A, Charles G, BenHamida J et Branchard M. 2006.** Phytoremédiation : apport de la sélection in vitro pour l'obtention de Colza (*Brassica napus* L.) tolérant aux métaux toxiques. International journal of tropical ecology and geography. 30(2), 69-86.

**Black H. 1995.** Absorbing possibilities: Phytoremediation. Environ. Health Perspect. 103, 1106-1108.

**Blaylock MJ, Huang JW. 2000.** Phytoextraction of metals. In I Raskin, BD Ensley, eds, Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. John Wiley and Sons, New York, p 53–70.

**Bocar A D. 2019.** Contamination des sols au plomb " Fractions chimiques du plomb dans le sol et phyto- extraction du plomb par le saule (*Salix miyabeana*) cultivé dans un sol calcaire riche en éléments traces métalliques traité avec des amendements acides p.10

- Bouriche H & Arnhold J. 2010.** Effect of *Cleome arabica* leaf extract treated by naringinase on neutrophil degranulation. *Acta Hort.*, 854: 15-22.
- Bouriche H, Selloum L, Tigrine C & Boudoukha C. 2003.** Effect of *Cleome arabica* leaf extract on rat paw edema and human neutrophil migration. *Pharmaceut. Biol.*, 41: 10-15
- BRGM. 2004.** Guide méthodologies du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport final, BRGM/RP-52881-FR.
- Briat. JF, Lebrum. M. 1999.** Plant responses to metal toxicity. *Plant Biology Pathology*. 322, 43-54.
- Brooks RR, Chambers MF, Nicks LJ, Robinson, BH. 1998.** Phytomining. *Trends in Plant Science* 3, 359-362.
- Brooks RR, Lee J, Reeves RD and Jaffré, T. 1997.** Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *Journal of Geochemical Exploration* 7, 49-57.
- Brown SL, Chaney RL, Angle JS, Baker AJM. 1995.** Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Science Society of America Journal* .59 (1), 125-133.
- Burton. KW, Morgan. E, and Roig. A. 1984.** The influence of heavy metals upon the growth of sitka-spruce in South Wales forests II Greenhouse experiments. *Plant Soil* 78, 271- 282.
- Casas S. 2005.** Thèse. Modeling trace metals (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) bioaccumulation in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis* Université de Toulon
- Cecchi M. 2008.** Devenir du plomb dans le système sol-plante : Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate). Thèse de Doctorat, Université Institut National Polytechnique, Toulouse, 215p.
- Cenkci S, Cigerci IH, Yildiz M, Özay C, Bozdogan A, Terzi H. 2010.** Pb contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. *Environmental and Experimental Botany*. 67(3), 467-473.
- Chaney RL, Malik M, Brown SL, Brewer EP, Angle JS, Baker AJM. 1997.** Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology*. 8, 279-284.
- Chopra RN, Nayar SL and Chopra IC. 1992.** *Glossary of Indian Medicinal Plants.* (.), New Delhi: Publication and Information Directorate, Council of Industry and Research.
- Chuang MC, Shu GY, Liu JC. 1996.** Solubility of heavy metal in a contaminated soil: effects of redox potential and pH. *Water, Air and Soil Pollution* 34: 543-556.
- Clemens S. 2006.** Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88: 1707-1719.

- Clemens S, Antosiewicz DM, Ward JM, Schachtman PD et Schroeder JI. 1998.** The plant cDNA LCT1 mediate the uptake of calcium and cadmium in yeast. *Proceedings of the National Academy of Science USA*. 95: 12043-12048.
- Cobbett C etGoldsbrough P. 2002.**Phytochelatin and metallothioneins : Roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Ann Rev Plant Bio*. 53 (1): 159-182.
- Cooper EM, Sims JT, Cunningham SD, Huang JW, Berti WR. 1999.** Chelate assisted phytoextraction of lead from contaminated soil. *Journal of Environmental Quality*.28, 1709- 1719.
- Cui Y.L, Zhu. YG, Zhai. RH, Chen.DY, Huang. YZ, Qui. Y. 2004.**Transfer of metals from soil to vegetables in an area near a smelter in Nanning, China. *Environmental Pollution* 2: 181-188.
- Cunningham SD, Berti WR. 2000.** Phytoextraction and phytostabilization: technical, economic, and regulatory considerations of the soil-lead issue. In: N Terry, G Bañuelos (eds.) *Phytoremediation of Contaminated Soils and Waters*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, USA, 359-375.
- Cunningham SD, Berti WR, Huang JW. 1995.** Phytoremediation of contaminated soils, *Trends in Biotechnology*.13(9), 393-398.
- Dhankher OP, Li Y, Rosen BP, Shi J, Salt D, Senecoff JF, et al. 2002.** Engineering tolerance and hyperaccumulation of arsenic in plants by combining arsenate reductase and  $\gamma$ - glutamylcysteine synthetase expression. *Nature Biotechnology*. 20,1140–5.
- Dushenkov V, Kumar P, Motto H, Raskin I. 1995.** Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environmental Science Technology*. 29, 1239- 45.
- Ebbs SD, Kochian LV. 1997.** Toxicity of zinc and copper to Brassica species: implication for phytoremediation. *Journal of Environmental Quality*. 26, 776-781.
- Ernst W. 1996.** Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. *Applied Geochemistry*, 11, 163-167.
- Gadd JM. 2000.** Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. Raskin.I and Ensley.B.D., John Wiley & Sons, Inc, New York, 304.
- Garbisu C, Alkorta I.2001.** Phytoextraction: A cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *BioresourceTechnology*.77(3), 229-236.
- Gardels M.C. and Sorg T.J. 1989.**A laboratory study of the leaching of lead from water faucets, *Journal of the American Water Works Association*, 81(7), 101-113.
- Gopal R, Rizvi AH. 2008.** Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. *Chemosphere*. 70(9), 1539–1544.
- Hinsinger P, Schneider A, Dufey JE. 2005.** Le sol : ressource en nutriments et biodisponibilité. In « *Sols et Environnement* », Dunod (ed), Paris, 285-305.
- Hettiarachchi GM, Pierzynski GM. 2002.** In situ stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide: influence of plant growth. *Journal Environmental Quality*, 31: 564- 572.

- Huang JW, and Cunningham SD. 1996.** Lead phytoextraction: Species variation in lead uptake and translocation. *New Phytologists*, 134, 75-84.
- Islam E, Liu D, Li T, Yang X, Jin X, Mahmood Q, Tian S, Li J. 2008.** Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *Journal of Hazardous Materials*. 154(1-3), 914-926.
- Jaffre T, Brooks RR, Lee J, Reeves RD. 1976.** *Sebertia acuminata* A nickel-accumulating plant from New Caledonia. *Science* 193, 579-580.
- Jana S, Choudhuri M. 1982.** Senescence in submerged aquatic angiosperms: effects of heavy metals. *New Phytologist*. 90, 477-484.
- Kärenlampi S, Schat H, Vangronsveld J, Verkleij JAC, Vander L, D Mergeay M and Tervahauta AI. 2000.** Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. *Environ. Poll.* 107, 225-231.
- Kirpichtchikova. 2009.** Phytoremédiation par Jardins Filtrants d'un sol pollué par des métaux lourds. Thèse. Université Joseph Fourier - Grenoble I .
- Kirtikar KR, Basu BD. 1987.** In: *Indian Medicinal Plants*, Vol. I, 2nd ed Dehradun: International Distributors.
- Kovalchuk I, Titov V, Hohn B, Kovalchuk O. 2005.** Transcriptome profiling reveals similarities and differences in plant responses to cadmium and lead. *Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 570(2), 149-161.
- Kumar P, Dushenkob V, Motto H, Raskin I. 1995.** Phytoextraction: The use of plant to remove heavy metals from soils. *Environmental Science and Technology* 29, 1232- 1238.
- Lamand. M. 1991.** Les oligo-éléments dans la biosphère. Dans *Les oligo-éléments en médecine* (Ed), et en biologie, Chappuis P, SFERETE, Lavoisier Tec&Doc, Paris, 25-39.
- Lecomte P. 1998.** Les sites pollués : Traitement des sols et des eaux souterraines. TEC & DOC, Lavoisier, Paris.
- Le floche. 1983.** Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Publication scientifiques tunisiennes. Programme flore et végétation tunisienne. Deuxième partie. 402 p.
- Legros J. 2007.** Les grands sols du monde. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. p 574.
- Liu D, Zou J, Meng Q, Zou J et Jiang W. 2009.** Uptake and accumulation and oxidative stress in garlic (*Allium sativum* L.) under lead phytotoxicity. *Ecotoxicology*. 18: 134- 143.
- Liu JX, Zu YG, Shi XG, Ai YZ, Du YJ, Fu YJ et An ZG. 2007a.** BjMT2, a metallothionein type-2 from *Brassica juncea*, may effectively remove excess lead from erythrocytes and kidneys of rats. *Environ Toxicol Pharmacol*. 23 (2): 168-173.

- Lombi E, Zhao FJ, Dunham SJ and MacGrath SP. 2001a.** Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: Natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. *Journal of Environmental Quality*, 30, 1919-1926.
- Lombi E, Zhao FJ, Dunham SJ and MacGrath SP. 2001a.** Cadmium accumulation in population of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*. *New Phytologist*, 145, 11- 20.
- Madi A. 2018.** Thèse de doctorat : Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*. Université des frères Mentouri. Constantine.
- Marmioli M, Antonioli G, Maestri E et Marmioli N. 2005.** Evidence of the involvement of plant ligno-cellulosic structure in the sequestration of Pb : An X-ray spectroscopy-based analysis. *Environ Poll.* 134 (2): 217-227.
- Martin A, Lamontagne L, Cossette JM. 1996.** Etude pédologique de l'île Sainte Thérèse, comté de Verchères (Québec).
- Martinez CE, Motto HL. 2000.** Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils. *Environmental Pollution*, 107, p. 153-158.
- McGrath SP, Zhao FJ. 2003.** Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*. 14, 277-282.
- McGrath S. 1998.** Phytoextraction for soil remediation. In *Plants that hyperaccumulate heavy metals: their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining*, Brooks, R., Ed. CAB International: New York, 261-288.
- Merian E. 1984.** Introduction on environmental chemistry and global cycles of chromium, nickel, cobalt, beryllium, arsenic, cadmium and selenium and their derivatives. *Toxicol. Environ. Chem.*, 8:9.
- Minguzzi C, Vergnano O. 1948.** Il contenuto di nichel nelle ceneri di *Alyssum bertolonii*. *Atti Societa Toscana Scienze Naturali* 55, 49-74.
- Miquel G., 2001.** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, rapport du Sénat n 261, 365p.
- Mishra S, S Srivastava, RD Tripathi, R Kumar, CS Seth and DK Gupta. 2006b.** "Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation." *Chemosphere* 65(6): 1027-1039.
- Mishra.A and MA.Choudhuri. 1998.** "Amelioration of lead and mercury effects on germination and rice seedling growth by antioxidants." *Biologia Plantarum* 41(3): 469-473.
- Mohan BS and BB Hosetti. 1997.** Potential phytotoxicity of lead and cadmium to *lemna minor* grown in sewage stabilization ponds." *Environmental Pollution* 98(2): 233-238.
- Molino P. 2005.** A guide to medicinal plants in North Africa. ISBN, Malaga.
- Mulligan CN, Yong RN and Gibbs BF. 2001.** Remediation technologies for metalcontaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology*, 60, 193-207.

- Murphy A et Taiz L. 1995.** Comparison of metallothionein gene expression and nonprotein thiols in ten Arabidopsis ecotypes. Correlation with copper tolerance. *Plant Physio.* 109: 945-954.
- Nriagu J.O. 1989.** A global assessment of natural source of atmospheric trace metals. *Nature*; 338: 47-49.
- Nriagu J.O, Pacyna.JM.1988.** Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, vol. 333, n° 12, p 134-139.
- Ozenda P. 1991.** Flore de sahara (3 édition mise à jour et augmentée) Paris, Editions du CNRS, 662p. + cartes.
- Parimalakrishnan S, Dey A, Smith A. 2007.** Evaluation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of methanol extract of *Cleome chelidonii*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 1(3), pp 223-228.
- Patra M, Bhowmik N, Bandopadhyay B, Sharma A. 2004.** Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany*. 52, 199-223.
- Pichard A. 2003.** Plomb et ses dérivés, institut national de l'environnement. 90 p, P7 Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots. *J. Plant Physiol.* 165, 571-579.
- Pichard A. 2002.** Plomb et ses dérivés. Fiche INERIS-DRC-01-25590-ETSC- Api/SD-N°00df257\_version2.doc, p.1-83.
- Pilon-Smits E. 2005.** Phytoremediation, in: *Annual Review of Plant Biology*. 15-39.
- Pourrut B, Perchet G, Silvestre J, Cecchi M, Guirese M, Pinelli E. 2008.** Potential rôle of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots. *Journal of Plant Physiology*. 165(6), 571-579.
- Pourrut Bertrand. 2008.** Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle. Thèse doctorat université de Toulouse.
- Quezel P, Santa C. 1962-1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S., Paris, 2 vol. 1170p.
- Raghavan R S. 1993.** Capparaceae. In: Sharma, B.D. & N. P. Balakrishnan (Eds) *Flora of India* vol2., Howrah: Botanical Survey of India: 248 – 335.
- Raskin I, Ensley BD, Salt DE. 1997.** Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology* 8, 221-226.
- Raskin I, Kumar, N.P.B.A, Dushenkov S, Salt DE. 1994.** Bioconcentration of heavy metal by plant. *Current Opinion in biotechnology* 5, 285-290. Springer Ed., Berlin and New York, 413 p.



- Reeves RD, Baker AJM. 2000.** Metal-accumulating plants. In: Raskin I, Ensley BD, eds. Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. New York: John Wiley and Sons, 193–229.
- Reeves RD, Brooks RR. 1983.** Hyperaccumulation of lead and zinc by two metallophytes from a mining area of Central Europe. *Environmental Pollution Series* 31, 277-287.
- Robinson BH, Brooks RR, Howes AW, Kirkman JH, Gregg PEH. 1997.** The potential of the high-biomass nickel hyperaccumulator *Berkheya coddii* for phytoremediation and phytomining. *Journal of Geochemical Exploration* 60, 115-126.
- Salt DE, Smith RD, Raskin I. 1998.** Phytoremediation, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 49, 643-668.
- Salt DE, Blaylock M, Kumar, N.P.B.A, Dushenkov S, Ensley BD, Chet I, Raskin I. 1995.** Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology* 5, 285-290.
- Sauve SM, McBride M, Hendershot W. 1998.** Soil solution speciation of lead : effect of organic matter and pH. *Soil Sci Soc Am J*, 62, p. 618-821.
- Saxena A, DK Saxena and HS Srivastava. 2003.**"The Influence of Glutathione on Physiological Effects of Lead and its Accumulation in Moss *Sphagnum Squarrosum*." *Water, Air, & Soil Pollution* 143(1): 351-361.
- Sayer JA, Cotter-Howells JD, Watson C, Hilier S, Gadd GM. 1999.** Lead mineral transformation by fungi. *Current Biology*, 9, p. 691-694.
- Schat H, Llugany M, Bernhard R. 2000.** Metal-specific patterns of tolerance, uptake and transport of heavy metals in hyperaccumulating and nonhyperaccumulating metallophytes. In: Terry N, Banuelos G, eds. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press LLC, 171–188.
- Schen ZG, Zhao FJ, McGrath SP. 1997.** Uptake and transport of zinc in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and the non-hyperaccumulator *Thlaspi ochroleucum*. *Plant Cell Environment*. 20, 898-906.
- Schickler H, Caspi H. 1999.** Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of the genus *Alyssum*. *Physiologia Plantarum*. 105, 39-44.
- Schok M. R. 1990.** Causes of temporal variability of lead in domestic plumbing systems, *Environmental Monitoring and Assessment*, 15, 59-82.
- Schwartz C. 1997.** Phytoextraction des métaux des sols pollués par la plante hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens*. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, France, Nancy, p 180.
- Seregin. IV, Ivanov. VB. 2001.** Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*. 48, 523-544.



- Shah K, Nongkynrih JM. 2007.** Metal hyperaccumulation and bioremediation. *Biologia Plantarum*. 51, 618-634.
- Shallari S. 1997.** Biodisponibilité du nickel du sol pour hyperaccumulateur *Alyssum murale*. Thèse de doctorat : Institut National Polytechnique de Lorraine. p 98.
- Sharma. P, Dubey. RS. 2005.** Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17, 35-52.
- Singh OV, Labana S, Pandey G, Budhiraja R, and Jain RK. 2003.** Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61, 405-412.
- Sposito G., 1989.** The chemistry of soils. Oxford University Press, New York.
- Sterckeman. T, Douay. F, Proix. N, Fourrier. H. 2000.** Vertical distribution of Cd, Pb, and Zn in soils near smelters in the North of France. *Environmental Pollution* 107: 377-389.
- Swaine DJ. 1986.** Lead. In DC Adriano (éd), Trace elements in the terrestrial environment. Springer Verlag, New York.
- Tandy S, Schulin R, Nowack B. 2006.** The influence of EDDS on the uptake of heavy metals in hydroponically grown sunflower. *Chemosphere*. 62, 1454-1463.
- Tanhan. P, Kruatrachue. M, Pokethitiyook. P et Chaiyarat. R. 2007.** Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by sea weed (*Chromolaena odorata* L.). *Chemosphere*. 68: 323-329.
- Teutsch. N, Erel, Haliez L. and Banin. A. 2001.** Distribution of natural and anthropogenic lead in Mediterranean soils. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*; 65: 2853-2864.
- Tomulescu. I, E. Radoviciu, V. Merca and A. Tuduce. 2004.** "Effect of Copper, Zinc and Lead and Their Combinations on the Germination Capacity of Two Cereals." *Journal of agricultural sciences* 15: 39-42.
- Tucker GC, Vanderpool SS. 2010.** Flora of North America: Volume 7: Magnoliophyta: Dilleniidae, Part 2, New York: Oxford University Press Inc: p. 199.
- UNICER. 2005.** A guide to medicinal plants in North Africa. Union internationale pour la conservation de la nature et ses ressources, Centre for mediterranean cooperation, Malaga, 256.
- Veeresh H, Tripathy S, Chaudhuri D, Ghosh B, Hart B, Powell M. 2003.** Changes in physical and chemical properties of three soil types in India as a result of amendment with fly ash and sewage sludge. *Environ Geol.*, 43 (2003), pp. 513-520
- Viraraghavan T, Subramanian K. S. and Venkata Rao B. 1999.** Impact of household plumbing fixtures on drinking water quality – a review. *Intern. J. Environ. Studies*, 56, 717, 743.
- Wierzbicka. M et Obidzinska. J. 1998.** «The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species» *Plant Science* 137: 155-171.

**Xiong. Z, Zhao. F, Li. M. 2006.** Lead toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr: effect on nitrate assimilation and growth. *Environmental Toxicology*. 21(2), 147-153.

**Xiong ZT. 1997.** Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L. *Environmental Pollution* 97: 275–279.

**Xu Y, Zhou G, Zhou L, Li Y et Liu J. 2007.** Expression patterns of the rice class I metallothionein gene family in response to lead stress in rice seedlings and functional complementation of its members in lead-sensitive yeast cells. *Chin Sci Bull*. 52 (16): 2203- 2209.

**Zenk MH. 1996.** Heavy metal detoxification in higher plants. a review *Gene*. 7;179(1),21-30.

**Zheng. N, Wang. Q, Zheng. D. 2007.** Health risk of Hg, Pb, Cd, Zn, and Cu to the inhabitants around Huludao zinc plant in China via consumption of vegetables. *The Science of the Total Environment*, 383, 81-89.

**Zhao FJ, Lombi E, Breedon T, McGrath SP. 2000.** Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. *Plant Cell Environ* 23, 507-514.

**Zhang J, Nguyen HT, Blum A. 1999.** Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plant. *Journal of Experimental Botany*. 50(332), 291-302.

**Zheng LJ, Liu XM, Lütz-Meindl U et Peer T. 2011.** Effects of lead and EDTA- assisted lead on biomass, lead uptake and mineral nutrients in *Lespedeza chinensis* and *Lespedeza davidii*. *Water Air Soil Poll*. 220 (1-4): 57-68.

### **Sites webs**

**Flora of Qatar, URL:** [www.floraofqatar.com/cleome\\_amblyocarpa.htm](http://www.floraofqatar.com/cleome_amblyocarpa.htm)

**Atlas-Sahara. URL :** [atlas-sahara.org/index/liens/liens.html](http://atlas-sahara.org/index/liens/liens.html)

**Phytokinetics. URL :** [www.ohvtokinetics.com](http://www.ohvtokinetics.com)

# *Annexes*

**Annexe 01** : Caractéristiques du terreau.

<b>Caractéristiques</b>	<b>Valeurs</b>
<b>Matière organique</b>	70 / 80 % de la matière sèche
<b>Matière sèche</b>	40 / 50 % du produit brute
<b>Porosité totale du volume</b>	80 % v/v
<b>Humidité</b>	Min 40% - Max 60%
<b>pH eau</b>	4.5 – 7.5
<b>Conductivité électrique</b>	0.7 dS/m
<b>Sel (H<sub>2</sub>O)</b>	< 1.5 g/l
<b>Potassium</b>	80 – 400 mg/l (K <sub>2</sub> O)
<b>Azote (CaCl<sub>2</sub>)</b>	50 – 300 mg/l (N)
<b>Phosphate</b>	80 – 300 mg/l (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )

**Annexe 02:** Préparation de la solution stressante

Le plomb est utilisé sous la forme Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> qui est mise en solution dans de l'eau distillée. Afin d'obtenir une concentration de 2500 ppm, 5000 ppm, 7500 ppm et 10000 ppm nous avons procédé aux calculs ci-dessous :  $Poids = C (mg/l \text{ ou ppm}) \cdot v(l) \cdot M \text{ Pb(NO}_3)_2 (g/mol) / MPb (g/mol)$ .

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

**Annexe 03** : Capacité de rétention de l'eau

Calcul de la capacité de rétention CR pour 100g de sable

P<sub>0</sub> poids pot de yaourt vide est 4.3 g.

P<sub>1</sub> poids de sable 100 g.

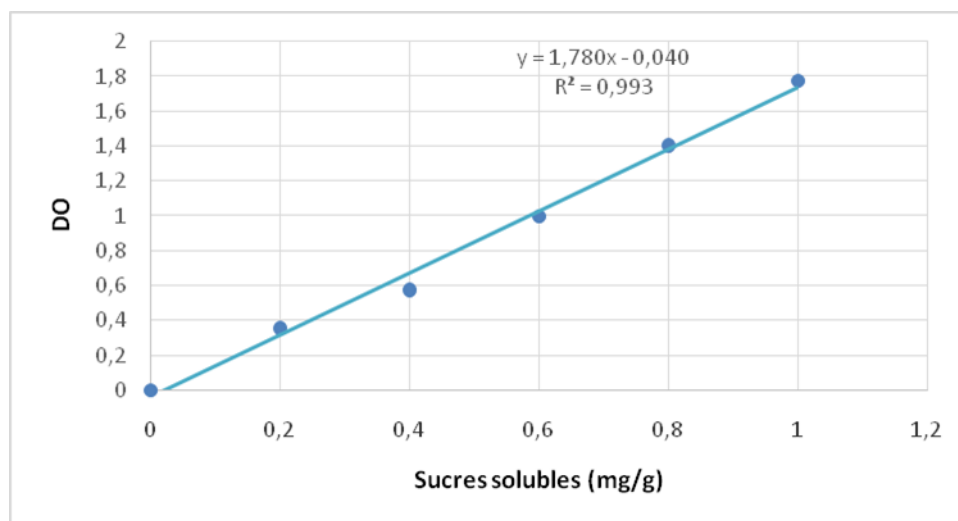
P<sub>2</sub> poids après 24h (après saturation) 127,1 g.

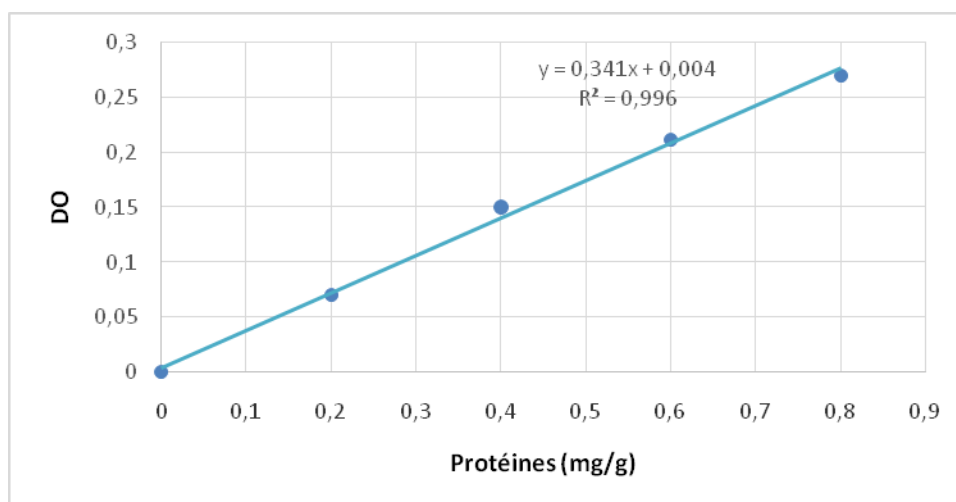
CR= (P<sub>2</sub>-P<sub>1</sub>)-P<sub>0</sub>= (127.1-100) - 4.3 = 22.8 g.

La capacité de rétention pour 100g de sable est égale 22.8ml.

**Annexe 05 : Composition de la solution nutritive Actifeg.**

<b>Eléments majeurs (g/l)</b>	
Azote (N)	200
Phosphore (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	200
Potassium (K <sub>2</sub> O)	200
<b>Oligoéléments (g/l)</b>	
Magnésium (MgO)	04
Fer EDTA (Fe)	0.65
Manganèse (Mn)	0.65
Molybdène (Mo)	0.05
Souffre (SO <sub>3</sub> )	8
Cuivre (Cu)	0.06
Zinc (Zn)	0.3
Bore (B)	0.3

**Annexe 06 : Courbe d'étalonnage****Figure 01 : Courbe d'étalonnage des sucres solubles**



**Figure 02** : Courbe d'étalonnage des Protéines totales