



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 recherche
Biodiversité et Conservation des Eaux et des Sols

Mémoire
Présenté par

LAZREUG Saliha
BOUCHAMI Khadidja

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

Intitulé

Effet du plomb sur les enzymes antioxydants du radis (*Raphanus sativus* L.)

Examiné par le jury composé de :

Président	Mme. MOSTARI Abbassia MAA	Université de Mostaganem
Examineur	M. MEJAHED Mostafa MAA	Université de Mostaganem
Encadrant	M. REGUIEG Yssaad H.A Pr	Université de Mostaganem
Co-encadrant	Mme. BENNAOUM Aicha Doctorante	Université de Mostaganem

Année universitaire : 2019-2020

Remerciements

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

Nous tenons à remercier profondément le membre de jury d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadreur 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 également tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A...



Ma chère maman

Mon cher papa

Ma jolie sœur Hanane

Mon frère chéri Abdellah

Ma petite princesse Maroua Yasmine

Ma petite famille que j'aime trop merci d'être toujours présent pour moi et mes soucis. Toujours été à mes cotés pour me soutenir et m'encourager.

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

Saliha

Dédicaces

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie

A Mes très chers parents, je ne saurais trouver les mots pour vous dire merci, car aucune parole ni expression ne serait suffisamment puissante pour vous exprimer mon immense gratitude et ma reconnaissance éternelle, je vous aime. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A toi, mon mari, mon âme, mon bonheur, mon confident, et mon passion, Qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main lorsque j'avais besoin d'aide, Cher Abed BOUKHATEM, je t'aime infiniment, que dieu te protège, et te garde pour moi.

A mes deuxièmes parents, Mama Fadela et Ba Ghoulemallah, Puisse Dieu, Le Très Haut, t'accorder santé, bonheur et longue vie.

*A mes très chères sœurs et frères
Zohra, Fatiha, Houria et Sarah
Fateh, Fayçal, Bouabdellah et Mohammed*

*A mes petits anges
Ibtissem, Didou, Mimi, Mohammed et Rihem.*

*A mes chères amies
Kahina, Leila, Sihem, Fatima, Hanane, faiza et Manel.*

A ma chère binôme Saliha, je veux te dire merci pour tous les moments inoubliables que j'ai passés avec toi.

Khadija

Liste des abréviations

Cu: cuivre

Zn: zinc

Fer: fer

Pb: plomb

Cd: cadmium

Hg: mercure

Ni: nickel

Cr: chrome

Se: selenium

Co: cobalt

Mo: molybdène

Mn: manganèse

Sn: étain

As: arsenic

ETM : élément Trace Métallique

Ppm: partie par million

Fig: figure

Mg: magnesium

pH: potentiel hydrogène

Eh: potentiel d'oxydoréduction

CEC: capacité d'échange cationique

MO: matière organique

PC : phytochélatines

MT : métallothionéines

Pb(CH₃)₄ : plomb tétram-éthyle

Pb(CH₂CH₃)₄ : plomb tétra-éthyle

ASC : acide ascorbique

SOD: superoxydes dismutases

CAT: catalases

POX: peroxydases

% : pourcentage

↗ : croissante

Liste des tableaux

Tableau 01. Tableau périodique des éléments de mendeleiev.....	3
Tableau 02. Classification des oligo-éléments et des contaminants stricts chez l'homme et chez les plantes supérieures.....	4
Tableau 03. Etude de transfert des ETM vers le sol et les plantes.....	7
Tableau 04. Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement.....	9
Tableau 05. Tableau relatif des éléments dans le sol en fonction du pH et du potentiel redox.....	12
Tableau 06. Propriétés physico-chimiques du plomb.....	14
Tableau 07. Concentration en éléments traces dans les parties aériennes de plantes (mg/kg MS).....	23
Tableau 08. Voie d'exposition au plomb chez l'homme.....	25
Tableau 09. Caractéristiques de différents procédés utilisés en phytoremédiation.....	38
Tableau 10. Classification botanique de radis <i>Raphanus sativus L</i>	43
Tableau 11. Dose des métaux lourds appliqués.....	48
Tableau 12. Effet du Pb sur les enzymes antioxydants de <i>Raphanus sativus L</i>	49

Liste des figures

Fig.1: Origines des métaux lourds dans le sol.....	5
Fig.2: Mobilité des métaux dans le sol.....	10
Fig.3 : Exprime la phyto disponibilité des éléments traces dans les sols.....	18
Fig.4 : Trajet des éléments métalliques de la surface des racines jusqu' au cylindre central par voie apoplastique (en bleu) et voie symplastique (en rouge).....	21
Fig.5 : Voies de prélèvements des métaux par la plante et mécanismes moléculaires impliqués dans l'absorption et le transport de ces métaux.....	28
Fig.6: Processus de phytoextraction.....	33
Fig.7: Schéma représentant une phytoextraction continue : La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne.....	34
Fig.8: Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs. La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne.....	35
Fig.9: Système de rhizofiltration ; Les plantes peuvent être utilisées en conditions hydroponiques pour filtrer les eaux polluées (polluants représentés par la tête de mort).....	35
Fig.10: Technique de la phytostabilisation.....	36
Fig.11: Technique de volatilisation.....	37
Fig.12: Processus de la phytodégradation des contaminants au niveau du sol.....	37
Fig.13: Principaux procédés de la phytoremédiation	39
Fig.14: Plante de <i>Raphanus sativus L.</i>	42
Fig.15: Plante de radis (<i>Raphanus sativus L.</i>), aspect des feuilles, des tiges, des fleurs et des gousses.....	44

Résumé

Le plomb est un métal toxique exploité depuis des années, dont l'usage s'est largement élevé avec la révolution industrielle et les activités agricoles etc. En raison de ses très nombreuses utilisations, il a largement été répandu dans l'environnement.

De nombreuses plantes sont capables d'immobiliser dans leurs compartiments les métaux lourds, radionucléides, composés organiques polluants et autres produits indésirables. Certaines plantes produisent des enzymes qui dégradent ces polluants en des produits moins toxiques ou non-toxiques. Ces propriétés en ont fait des candidates d'avenir à la dépollution des sols.

L'objectif de cette synthèse est d'évaluer l'effet stressant du plomb sur les enzymes antioxydants du radis *Raphanus sativus L.*, afin de se prononcer sur sa capacité de décontaminer un sol pollué, les substrats reçoivent quatre traitements du plomb sous forme de solution de nitrate de plomb ($PbNO_3$) à des doses différentes (0,200,500 et 1000 ppm) et (0,250,500 et 1000 ppm).

L'étude comparative des résultats obtenus des travaux de recherche déjà réalisés, montre une accumulation importante des enzymes antioxydants (catalase et peroxydase) en fonction de la concentration croissante de (plomb) au niveau des parties aériennes et racinaires de *Raphanus sativus L.*

Le présent travail a montré que la plante du radis (*Raphanus sativus L.*) peut être utilisée dans la dépollution des sols contaminés au plomb (Pb). Cette déduction est fondée sur l'analyse des enzymes impliqués dans la réponse au stress oxydant dans les cellules du radis exposé à différentes concentrations de Pb et sur l'évaluation des capacités de tolérance et de défense de cette plante contre les effets du plomb.

Mots-clés: Plomb, stress métallique, *Raphanus sativus L.*, enzyme antioxydant, phytoremédiation.

Abstract

Lead is a toxic metal that has been exploited for years, its use greatly increased with the industrial revolution and agricultural activities etc. Due to its many uses, it has been widely distributed in the environment.

Many plants are able to immobilize heavy metals, radionuclides, polluting organic compounds and other undesirable products in their compartments. Some plants produce enzymes that break down these pollutants into less toxic or non-toxic products. These properties have made them future candidates for soil remediation.

The objective of this synthesis is to evaluate the stressful effect of lead on the antioxidant enzymes of the radish *Raphanus sativus L.*, in order to decide on its capacity to decontaminate a polluted soil, the substrates receive four treatments of lead in the form of solution of lead nitrate (PbNO_3) at different doses (0,200,500 and 1000 ppm) and (0,250,500, and 1000 ppm).

The comparative study of the results obtained from research work already carried out shows a significant accumulation of antioxidant enzymes (catalase and peroxidase) according to the increasing concentration of (lead) in the aerial and root parts of *Raphanus sativus L.*

The present work has shown that the radish plant (*Raphanus sativus L.*) can be used in the decontamination of soils contaminated with lead (Pb). This deduction is based on the analysis of the enzymes involved in the response to oxidative stress in radish cells exposed to different concentrations of Pb and on the evaluation of the tolerance and defense capacities of this plant against the effects of lead.

Keywords: Lead, metal stress, *Raphanus sativus L.*, antioxidant enzyme, phytoremediation.

الملخص

الرصاص معدن سام تم استغلاله اسنوات و تزايد استخدامه بشكل كبير مع الثروة الصناعية و الانشطة الزراعية و ما الى ذلك ، نظرا لاستخداماته العديدة على نطاق واسع في البيئة.

العديد من النباتات لها القدرة على شل حركة المعادن الثقيلة ، النويدات المشعة ، المركبات العضوية المركبة و غيرها من المنتجات غير فيها في مقصورتها.

تنتج بعض النباتات انزيمات تعمل على تفكيك هذه الملوثات الى منتجات اقل سمية او غير سامة. هذه الخصائص جعلت منه مرشحا لمعالجة التلوث مستقبلا.

الهدف من هذا التركيب هو تقييم التأثير المجهد للرصاص على الانزيمات المضادة للأكسدة للفجل من اجل تحديد قدرتها على تطهير التربة الملوثة ، تتلقى الركائز اربعة معالجات للرصاص على شكل محلول نترات الرصاص ($PbNO_3$) مختلفة التركيزات (0، 200، 500، 1000 جزء من المليون) و (0، 250، 500، 1000 جزء من المليون).

أظهرت الدراسة المقارنة للنتائج التي تم الحصول عليها من العمل البحثي الذي تم إجراؤه بالفعل تراكمًا كبيرًا للإنزيمات المضادة للأكسدة (الكاتلاز والبيروكسيديز) وفقًا لزيادة تركيز (الرصاص) في الأجزاء الهوائية والجذرية من الفجل.

أظهر العمل الحالي أن نبات الفجل يمكن استخدامه في تطهير التربة الملوثة بالرصاص. يعتمد هذا الاستنتاج على تحليل الإنزيمات المشاركة في الاستجابة للإجهاد التأكسدي في خلايا الفجل المعرضة لتركيزات مختلفة من الرصاص وعلى تقييم قدرة هذا النبات على التحمل والدفاع ضد تأثيرات الرصاص.

الكلمات المفتاحية: الرصاص ، الإجهاد المعدنية ، الفجل ، الإنزيم المضاد للأكسدة ، المعالجة النباتية.

TABLE DE MATIERE

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les métaux lourds

I.1. Définition	3
I.1.1 Métaux essentiels	3
I.1.2 Métaux toxiques.....	4
I.2. Origine des métaux lourds	4
I.2.1.Sources naturelles.....	4
I.2.2. Sources anthropiques	5
I.3. Caractéristiques des métaux	5
I.3.1. Propriétés physico-chimiques des métaux lourds	5
I.3.2. Toxicité des métaux lourds	5
I.3.2.1.Effets sur la santé humaine.....	6
I.3.2.2.Effets sur les végétaux	6
I.3.2.3.Effets sur l'environnement	7
I.4. Pollution par les métaux lourds	8
I.4.1. Pollution atmosphérique	8
I.4.2. Certaines pratiques agricoles	8
I.4.3. Pollution industrielle	8
I.5. Mobilité des métaux lourds dans le sol	9

I.5.1.Principaux facteurs abiotiques influençant la mobilité et la disponibilité des métaux.....	10
I.5.1.1. Teneur en colloïdes	10
I.5.1.2. Capacité d'échange cationique (CEC).....	10
I.5.1.3. Matière organique (MO).....	10
I.5.1.4. Potentiel hydrogène (pH).....	11
I.5.1.5. Potentiel d'oxydoréduction (Eh)	11
I.5.2. Principaux facteurs biotiques influençant la mobilité et la disponibilité des métaux	12
I.5.2.1. Principaux modes d'actions des facteurs influençant la mobilité et la disponibilité des métaux	12
a- Solubilisation.....	12
b- Insolubilisation.....	13
c- Volatilisation.....	13

Chapitre II : Le plomb

II.1. Généralités sur le plomb.....	14
II.1.1. Propriétés physico-chimiques du plomb.....	14
II.1.2. Origines de la pollution par le plomb	15
II.2. Le plomb dans le compartiment sol-plante.....	15
II.2.1. Plomb dans le sol	15
II.2.1.1. Origines et comportement du plomb dans le sol	15
II.2.1.2. Mobilité du plomb dans le sol	16
a- Influence du pH	16
b- Influence du potentiel redox	17
c- Influence de la composition minéralogique du sol	17
II.2.2. Plomb dans la plante	17
II.2.2.1. Phytodisponibilité	18
II.2.2.2. Absorption du plomb par la plante	19
II.2.2.2.1. Absorption foliaire	19
II.2.2.2.2. Mécanisme d'absorption sur les racines	19
II.2.2.3. Mécanismes d'absorption racinaire	20

II.2.2.3.1. Voies d'absorption racinaire	20
II.2.2.3.1.1. Voie apoplastique	21
II.2.2.3.1.2. Voie symplastique	21
II.2.2.4. Transfert du plomb des racines vers les parties aériennes	22
II.3. Effets du plomb	23
II.3.1. Effets généraux du plomb sur la plante	23
II.3.2. Effet sur les activités enzymatiques	24
II.3.3. Effet sur la nutrition minérale	24
II.3.4. Effet sur la santé humaine	24

Chapitre III : Tolérance au plomb chez les végétaux

III.1. Tolérance et détoxification	26
III.1.1. Mécanismes généraux de tolérance et détoxification	26
III.1.2. Phytochélatines, une classe particulière de peptides	27
III.1.3. Métallothionéines (MT)	27
III. 1.2.1. Antioxydants	29
III. 1.2.1.1. Définition	29
III. 1.2.1.2. Principaux systèmes non enzymatiques	29
- Vitamine C	29
- Glutathion	29
- Vitamine E	29
- Caroténoïdes	30
III.1. 2.1.3. Principales enzymes antioxydantes	30
- Superoxydes dismutases (SOD)	30
- Catalases (CAT)	31
- Peroxydases (POX)	31

Chapitre IV : Phytoremédiation

IV.1. Généralité sur la phytoremédiation	32
IV.2. Définition de la phytoremédiation	32
IV.3. Principe de la technique de phytoremédiation	32

IV.4. Les différentes techniques de la phytoremédiation	32
IV.4.1. Phytoextraction	33
IV.4.1.1. Phytoextraction naturelle	34
IV.4.1.2. Phytoextraction induite ou assistée par des chélateurs	34
IV.4.2. Rhizofiltration	35
IV.4.3. Phytostabilisation	36
IV.4.4. La phytostimulation	36
IV.4.5. Phytovolatilisation	36
IV.4.6. Phytodégradation ou rhizodégradation	37
IV.5. Plantes transgéniques et la phytoremédiation	39
IV.6. Avantages et limites de la technique	40
IV.6.1. Avantages	40
IV.6.2. Inconvénients	40

Chapitre V: *Le radis (Raphanus sativus L.)*

V. Généralités sur l'espèce le radis (<i>Raphanus sativus L.</i>)	41
V.1. Présentation de l'espèce	41
V.1.1. Famille des Brassicacées	41
V.1.2. Radis (<i>Raphanus sativus L.</i>)	42
V.1.3. Classification botanique du radis	43
V.1.4. Origine du radis	43
V.1.5. Description	43
V.2. Culture du radis	44
V.3. Variétés les plus cultivées en Algérie	45
V.4. Récolte et conservation du radis	45
V.5. Composition du radis « <i>Raphanus sativus L.</i> »	45
V.5.1. Propriétés et valeur nutritive du radis	45
V.5.2. Principes actifs antioxydants	46
V.6. Importance écologiques et environnementaux	46
V.6.1 Intérêts écologiques	46

V.6.2 Intérêts écotoxicologiques	46
V.7. Tolérance au stress métallique	47

Chapitre VI : Synthèse sur la réponse du radis au stress métallique

VI. Réponse du radis au stress métallique de Plomb	48
VI.1. Extraction et dosage des enzymes anti-oxydantes : catalase (CAT) et peroxydase (POD).....	48
VI.1.1. Extraction des enzymes	48
VI.1.1.1. Dosage de la catalase (CAT)	48
VI.1. 1.2. Dosage de la peroxydase (POD)	48
VI.2. Effet du plomb sur les enzymes antioxydants VI.2.1. Effet du Plomb sur le taux de la catalase (CAT)	49
VI.2.2. Effet du Plomb sur le taux de la peroxydase (POD)	49
VI.3. Discussion	50
Conclusion	51
Références	52

Introduction

Introduction

Au fil des siècles, les activités anthropiques telles que les procédés métallurgiques, la production industrielle, les activités agricoles et l'exploitation minière, ont entraîné une élévation des teneurs en métaux lourds et donc une vaste contamination qui menace le bien-être de l'environnement mondial d'aujourd'hui. L'industrie minière est parmi les principaux contributeurs qui a conduit à un fort accroissement de la pollution métallique des terres, des rivières et de l'air dans de nombreuses parties du monde (**Wuana and Okieimen, 2011** ; **Akpor et al., 2014** ; **Cinnirella et al., 2014**).

Le problème des sols contaminés est aujourd'hui très préoccupant pour les pays émergents. Les métaux lourds tels que le plomb, le cadmium, le cuivre, le zinc, et le mercure ne peuvent pas être biodégradés et donc persistent dans l'environnement pendant de longues périodes. De plus ils sont continuellement rajoutés dans les sols par diverses activités : en agriculture par l'application de boues d'épuration ou dans l'industrie métallurgique. L'accumulation des métaux lourds dans l'environnement peut se répercuter sur la santé des êtres humains et des animaux (**Wang et al., 2003**).

Le plomb perturbe ainsi les structures membranaires et pariétales, modifie le statut hydrique, perturbe l'absorption et/ou la translocation des éléments minéraux essentiels (calcium, manganèse, zinc, fer...) ou encore réduit la photosynthèse (**Seregin et Ivanov, 2001**; **Sharma et Dubey, 2005**). A l'échelle macroscopique, l'exposition des plantes au plomb induit une réduction de la croissance, de la biomasse produite, des rendements et lorsque le stress est trop sévère, conduit à l'apparition de signes racinaires et foliaires visibles tel que les nécroses et les chloroses, voire la mort de la plante (**Seregin et Ivanov, 2001**; **Sharma et Dubey, 2005**).

Le radis est considéré comme un bon modèle pour étudier la dépollution des sols par les métaux lourds tel que l'aluminium (**Cargnelutti et al., 2006**), le cadmium (**Anuradha et Rao, 2007** ; **El-Beltagi et al., 2010**), le cuivre (**Sun et al., 2010**), le plomb (**Tecklic et al., 2008**); et il a une valeur nutritionnel et économique : riche en cellulose, minéraux (calcium, fer, potassium et soufre), peroxydase, proanthocyanidines (protègent les vaisseaux sanguins), vitamine C (**Curtis, 2003**).

Afin de pallier les principales limitations des méthodes actuellement disponibles dans les stratégies de dépollution, les recherches s'orientent depuis quelques années vers l'utilisation de plantes supérieures. On sait en effet depuis longtemps que la présence d'un couvert végétal induit ou stimule la biodégradation d'une grande variété de contaminants

organiques (**Reilley et al., 1996**). Par ailleurs, certaines plantes, dites métalphytes, sont capables de se développer normalement sur des sites fortement contaminés par divers métaux et certains de ces végétaux, qualifiés d'hyperaccumulateurs (**Brooks, 1998**), sont capables de stocker massivement les métaux dans leurs parties aériennes. Ainsi, les études concernant l'écophysiologie et le métabolisme des plantes supérieures en milieu contaminé, ont progressivement permis d'insérer le concept de phytoremédiation à côté de celui de bio-remédiation des sites pollués.

Le travail expérimental de ce mémoire a été annulé suite à la force majeure relative à la propagation de la pandémie du Corona virus « Covid-19 ». L'objectif général de ce travail est d'étudier l'effet du plomb sur les enzymes antioxydants du radis (*Raphanus sativus L.*).

Pour ce faire, plusieurs recherches documentaires ont été faites sur le même métal, la même espèce et les mêmes paramètres biochimiques pour analyser et synthétiser les meilleures expérimentations réalisées antérieurement dans le même contexte.

Le présent manuscrit s'articule en deux parties : une première partie bibliographique, une deuxième partie qui présente une étude comparative exposant les résultats obtenus, interprétés et discutés afin de tester l'aptitude de radis à décontaminer un sol pollué par le plomb.

*Synthèse
bibliographique*

*Généralités sur les
métaux lourds*

I. Généralités sur les métaux lourds

I.1. Définition

Un métal est une matière, issue le plus souvent d'un minerai ou d'un autre métal, dotée d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristique de dureté et de malléabilité, se combinant ainsi aisément avec d'autre éléments pour former des alliages utilisables dans l'industrie (Gérard, 2001).

Du point de vue science de la vie, les métaux lourds se trouvent par définition en concentration inférieure à 100 mg/Kg de matière sèche dans les organismes vivants, végétaux ou animaux, non affectés par des carences ou des toxicités (Nieboer and Richardson, 1980 ; Coïc and Coppenet, 1989 ; Loué, 1993).

I.1.1 Métaux essentiels

Ils sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les Tissus biologiques (Loué, 1993). Certains peuvent devenir toxiques lorsque la Concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du zinc (Zn), du fer (Fe). Par exemple, le zinc (Zn), à la concentration du milli molaire, est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques (déshydrogénases, protéinase, peptidase) et joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides (kabatependias et Pendas, 2001).

Tableau 01. Tableau périodique des éléments de mendeleiev (Issaka, 2014).

Le tableau périodique des éléments de Mendeleïev est présenté ci-dessous. Les éléments sont classés par numéro atomique croissant. Les métaux lourds, tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le fer (Fe), le cobalt (Co), le nickel (Ni), le manganèse (Mn), le chrome (Cr), le cadmium (Cd), l'argent (Ag), le mercure (Hg), le plomb (Pb), le bismuth (Bi), le polonium (Po), l'astatine (At) et le radon (Rn), sont mis en évidence par une couleur bleue.

1 1.0079 H HYDROGÈNE																	2 4.0026 He Hélium
3 6.941 Li LITHIUM	4 9.0122 Be Béryllium											5 10.811 B Bore	6 12.011 C Carbone	7 14.007 N Azote	8 15.999 O Oxygène	9 16.999 F Fluor	10 20.180 Ne Néon
11 22.990 Na Sodium	12 24.305 Mg Magnésium											13 26.982 Al Aluminium	14 28.086 Si Silicium	15 30.974 P Phosphore	16 32.065 S Soufre	17 35.453 Cl Chlore	18 39.948 Ar Argon
19 39.098 K Potassium	20 40.078 Ca Calcium	21 44.956 Sc Scandium	22 47.867 Ti Titane	23 50.942 V Vanadium	24 58.930 Cr Chrome	25 54.936 Mn Manganèse	26 55.845 Fe Fer	27 58.933 Co Cobalt	28 58.693 Ni Nickel	29 63.546 Cu Cuivre	30 65.39 Zn Zinc	31 69.723 Ga Gallium	32 72.64 Ge Germanium	33 74.922 As Arsenic	34 78.96 Se Sélénium	35 79.904 Br Brome	36 85.00 Kr Krypton
37 85.468 Rb Rubidium	38 87.62 Sr Strontium	39 88.906 Y Yttrium	40 91.224 Zr Zirconium	41 92.906 Nb Niobium	42 95.94 Mo Molybdène	43 (98) Tc Technétium	44 101.07 Ru Ruthénium	45 102.91 Rh Rhodium	46 106.42 Pd Paladium	47 107.87 Ag Argent	48 112.41 Cd Cadmium	49 114.42 In Indium	50 118.71 Sn Étain	51 121.76 Sb Antimoine	52 127.60 Te Tellure	53 126.90 I Iode	54 131.29 Xe Xénon
55 132.91 Cs Césium	56 137.33 Ba Baryum	57-71 La-Lu lanthanides	72 178.49 Hf Hafnium	73 180.95 Ta Tantale	74 183.84 W Tungstène	75 186.21 Re Rhenium	76 186.21 Os Osmium	77 188.91 Ir Iridium	78 195.08 Pt Platine	79 196.97 Au Or	80 200.59 Hg Mercure	81 204.38 Tl Thallium	82 207.2 Pb Plomb	83 208.98 Bi Bismuth	84 (209) Po Polonium	85 (210) At Astatin	86 (222) Rn Radon
87 (223) Fr Francium	88 (226) Ra Radium	89-103 Ac-Lr actinides	104 (261) Rf Rutherfordium	105 (262) Db Dubnium	106 (263) Sg Seaborgium	107 (264) Bh Bohrium	108 (273) Hs Hassium	109 (269) Mt Meitnerium	110 (281) Uun Ununium	111 (272) Uub Unbium	112 (285) Uuq Unquadium						

I.1.2 Métaux toxiques

Ils ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd) (**Behanzin et al., 2014**).

Les éléments dont le caractère essentiel pour les êtres vivants n'a pas été démontré sont appelés contaminants stricts (Tableau 2).

Tableau 02. Classification des oligo-éléments et des contaminants stricts chez l'homme et chez les plantes supérieures (**Bargagli, 1998**).

Pour l'homme	
Oligo-éléments à risque élevé de carence	Cu, Zn, Se, Cr, Mo
Oligo-éléments à faible risque de carence	Ni, Co, As
Contaminants stricts	Pb, Cd, Hg, Tl
Pour les plantes supérieures	
Eléments essentiels	B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn
Eléments bénéfiques	Cl, Cr, F, I, Li, Na, Ni, Rb, Se, Si, Sr, Ti, V
Contaminants stricts	Br, Cd, Pb, Hg

I.2 Origine des métaux lourds

I.2.1 Sources naturelles

Les métaux lourds sont présents naturellement dans les roches, ils sont libérés lors de l'altération de celles-ci pour constituer le fond géochimique (**Bourrelier et Berthelin, 1998**).

Parmi les importantes sources naturelles, citons l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts. La contribution des volcans peut se présenter sous forme d'émissions volumineuses dues à une activité explosive, ou d'émissions continues de faible volume, résultant notamment de l'activité géothermique et du dégazage du magma (**AFNOR, 1988**).

I.2.2. Sources anthropiques

Les métaux provenant d'apports anthropiques sont présents sous des formes chimiques assez réactives et entraînent de ce fait des risques très supérieurs aux métaux d'origine naturelle qui sont le plus souvent immobilisés sous des formes relativement inertes (Weiss *et al.*, 1999).

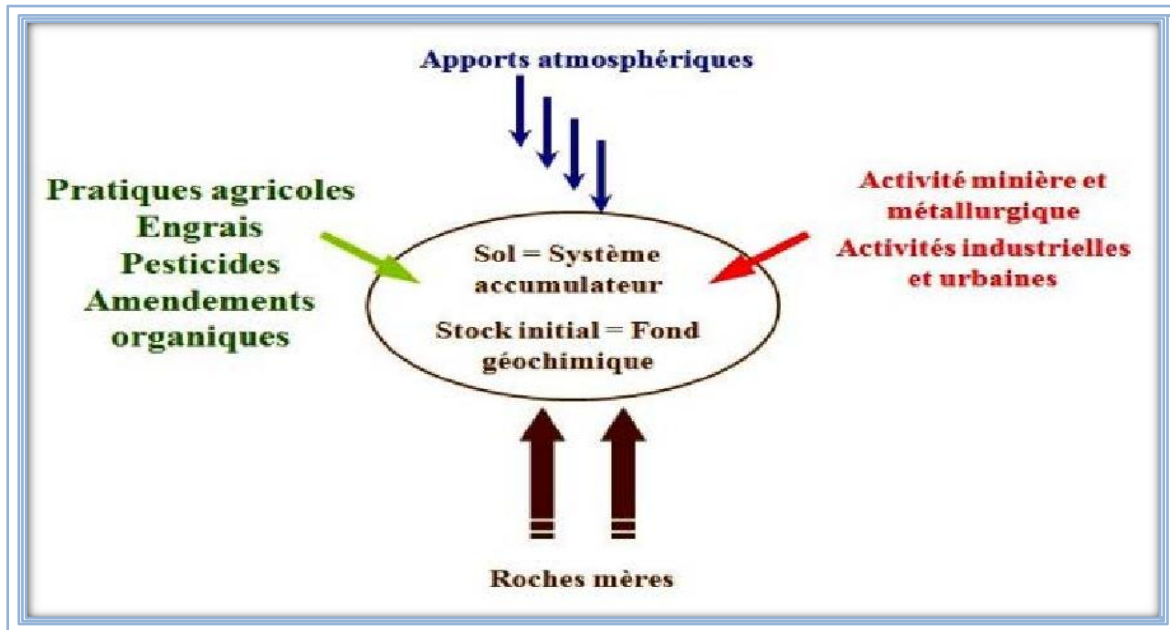


Fig.1: Origines des métaux lourds dans le sol (Robert et Juste, 1999).

I.3. Caractéristiques des métaux

I.3.1. Propriétés physico-chimiques des métaux lourds

Les métaux lourds possèdent les propriétés physiques générales des métaux lourds (bonne conductivité thermique et électrique). Ils sont fortement électropositifs et donnent par perte d'électrons des cations métalliques de charge variable (Diard, 1996).

Ces cations métalliques, qui possèdent à la fois des densités de charge élevées et un caractère électrophile, peuvent former avec des ligands des liaisons ioniques, covalentes ou intermédiaires, et donnent naissance à des complexes plus ou moins stables (Diard, 1996).

I.3.2. Toxicité des métaux lourds

Les métaux lourds sont présents dans la nature et leur caractéristique commune est leur toxicité. Cette toxicité est renforcée par un phénomène de concentration qu'on appelle la bioaccumulation ou bioamplification. La bioaccumulation est le processus d'assimilation et de concentration des métaux lourds dans l'organisme (Miquel, 2001).

Certains de ces éléments, présents à l'état de trace, sont essentiels pour les organismes vivants (Cu, Zn, Co, Fe, Mn, Ni, Cr, Mo, Se et Sn), mais l'augmentation de leur concentration peut aboutir à des phénomènes de toxicité. D'autres éléments ne produisent que des effets néfastes (Pb, Hg et Cd) (**Bonnet *et al.*, 2000**). La toxicité des métaux lourds vis-à-vis des organismes vivants dépend de leur nature, la concentration, le mode d'action, la spéciation et de leur biodisponibilité (**Alzieu, 1999 ; Bonnet *et al.*, 2000**).

I.3.2.1.Effets sur la santé humaine

Les métaux lourds font partie des éléments toxiques pour la santé qui passent des champs vers les eaux des écosystèmes (**Lebohec et Gîraud, 1999**). Beaucoup d'entre eux se trouvent dans l'air sous une forme inhalable par l'Homme et peuvent être à l'origine d'une contamination par la voie respiratoire (**Rondeau, 1972**).

Cependant, dans certaines régions durement touchées par la pollution, les aliments cultivés sur place renferment parfois de grandes quantités de contaminants toxiques (**Bellows, 1999**), ils peuvent donc représenter un danger grave pour l'alimentation humaine puisque certains métaux lourds, tels que le plomb, le cadmium et le mercure, ont été reconnus comme étant potentiellement toxiques au-delà de valeurs limites spécifiques (**Becker et Kumplainen, 1991**).

Ils ont aussi tendance à perturber les systèmes reproducteur et endocrinien (comprenant tous les organes/glandes possédant une fonction de sécrétion d'hormones). Des effets neurotoxiques surviennent directement quand les métaux lourds franchissent la barrière encéphalique, provoquant des atteintes du système nerveux central telles que les maladies de Parkinson et d'Alzheimer et, chez le fœtus, un dérèglement du développement cérébral (**Kyung- Min Lim *et al.*, 2010**).

I.3.2.2.Effets sur les végétaux

Naturellement présents à très faible concentration dans les tissus vivants, les métaux jouent un rôle important dans le métabolisme et selon leur concentration, ils sont considérés comme des éléments toxiques ou nécessaires (**Shallari, 1997**).

Parmi l'ensemble des métaux lourds, une vingtaine d'entre eux sont indispensables aux processus physiologiques majeurs, en particulier la respiration, la photosynthèse ou l'assimilation des macronutriments (**Kabata-Pendias et Pendias, 2001**).

Ils jouent ainsi un rôle d'accepteurs ou de donneurs d'électrons, très important dans les multiples systèmes enzymatiques mettant en jeu des réactions d'oxydoréduction (**Chaignon, 2001**).

D'autres enfin, sont tolérantes aux métaux, qui ont la propriété d'accumuler de très grandes quantités de métaux dans leurs tissus. On dit alors de ces plantes (**Cunningham et Ow, 1996**), « hyperaccumulatrices » absorbent et accumulent en grande quantité des ions métalliques dont certains, comme l'arsenic (As) ou le cadmium (Cd), n'ont pas d'utilité apparente pour la plante (**Xiong, 1997 ; Zhu et al., 1999 ; Baroni et al., 2000 ; Piechalak et al., 2002 ; Zhang et al., 2002**).

I.3.2.3. Effets sur l'environnement

Nous assistons impuissants à une mondialisation sans cesse croissante des problèmes liés à l'environnement. La production agricole moderne, l'industrie propre, le développement des biotechnologies, en dépit des confort qu'ils nous apportent (**Benabdeli et Benmansour, 1998**), ont augmenté les concentrations des polluants élémentaires dans l'environnement (**Schneegurt et al., 2001**). Cependant, la contamination diffuse de grandes étendues de la terre (**Barceló, 1989**).

La contribution de l'Homme à la mise en circulation des éléments traces métalliques et leur dissémination dans l'environnement sont très variables et dépend des métaux et des voies de rejets. La répartition entre les différentes sources s'établit comme suit : (Tableau 3) d'après (**Miquel, 2001**).

Tableau 03. Etude de transfert des ETM vers le sol et les plantes (**Miquel, 2001**).

Elément	Cuivre	Zinc	Cadmium	Plomb
Total (milliers de tonnes)	216	760	20	382
Déchets agricoles	55%	61%	20%	12%
Déchets urbains	28%	20%	38%	19%
Engrais	1%	1%	2%	1%
Retombées atmosphériques	16%	18%	40%	68%

I.4. Pollution par les métaux lourds

I.4.1. Pollution atmosphérique

Résulte des activités industrielles (rejets d'usine) et urbaines (gaz d'échappement, etc.). Il faut distinguer les apports diffus aériens d'origine lointaine des apports massifs localisés d'origine proche. Dans les apports diffus sont classés les poussières et aérosols provenant Des chauffages ainsi que des moteurs d'automobiles. Les apports massifs localisés résultent d'apports anthropiques accidentels liés aux activités industrielles sans protection efficace contre la dispersion dans l'environnement (**Baize, 1997**).

I.4.2. Certaines pratiques agricoles

Sont à l'origine de l'introduction de métaux lourds dans le sol. Les produits destinés à améliorer les propriétés physico-chimiques du sol sont souvent plus riches en métaux lourds que le sol lui-même par exemple les engrais, les composts et les boues de station d'épuration (**Robert et Juste, 1999**).

I.4.3. Pollution industrielle

Provenant des usines de production de l'activité humaine tels que les matières organiques et graisses (industries agro-alimentaires), les produits chimiques divers (industries chimiques), les matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs) et la métallurgie (**Godin et al., 1985**).

Les déchets miniers et les terrils industriels sont une source particulièrement importante de pollution par le zinc, le plomb et le cadmium.

Le rôle des pratiques industrielles et agricoles dans la contamination des sols doit être pris en compte : cela concerne une grande partie du territoire. Leur accumulation et leur transfert constituent donc un risque pour la santé humaine via la contamination de la chaîne alimentaire, mais aussi pour le milieu naturel dans son ensemble (**Bourrellet et Berthelin, 1998**).

Tableau 04. Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement (Brignon *et al.*, 2005).

Utilisations	Métaux
Batteries et autres appareils électriques	Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Ni
Pigments et peintures	Ti, Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Sn, Cr, Al, As, Cu, Fe
Alliages et soudures	Cd, As, Pb, Zn, Mn, Sn, Ni, Cu
Biocides (pesticides, herbicides)	As, Hg, Pb, Cu, Sn, Zn, Mn
Agents de catalyse	Ni, Hg, Pb, Cu, Sn
Verre	As, Sn, Mn
Engrais	Cd, Hg, Pb, Al, As, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn
Matières plastiques	Cd, Sn, Pb
Produits dentaires et cosmétiques	Sn, Hg
Textiles	Cr, Fe, Al
Raffineries	Ni, V, Pb, Fe, Mn, Zn
Carburants	Ni, Hg, Cu, Fe, Mn, Pb, Cd

I.5. Mobilité des métaux lourds dans le sol

La toxicité d'un métal dépend grandement de sa spéciation (forme chimique) mais aussi des facteurs environnementaux (Babich *et al.*, 1980). La forme chimique des ETM affecte leur mobilité dans les sols et leur capacité de transfert dans les différents compartiments environnementaux. La mobilité correspond à l'aptitude d'un élément à passer d'un compartiment du sol où il est retenu avec une certaine énergie vers un autre compartiment où il est retenu avec une énergie moindre (Anju *et al.*, 2012).

Elle peut être étudiée au travers du changement de phase porteuse d'un élément, à l'échelle d'un sol, la mobilité d'un élément peut être évaluée en étudiant sa distribution verticale ou latérale (Bissou *et al.*, 2012).

Les activités biologiques de certains organismes peuvent aussi influencer la disponibilité des métaux lourds présents dans le sol. Certaines activités métaboliques microbiennes influencent aussi la mobilité des métaux lourds par solubilisation, insolubilisation ou volatilisation (Gadd, 2010).

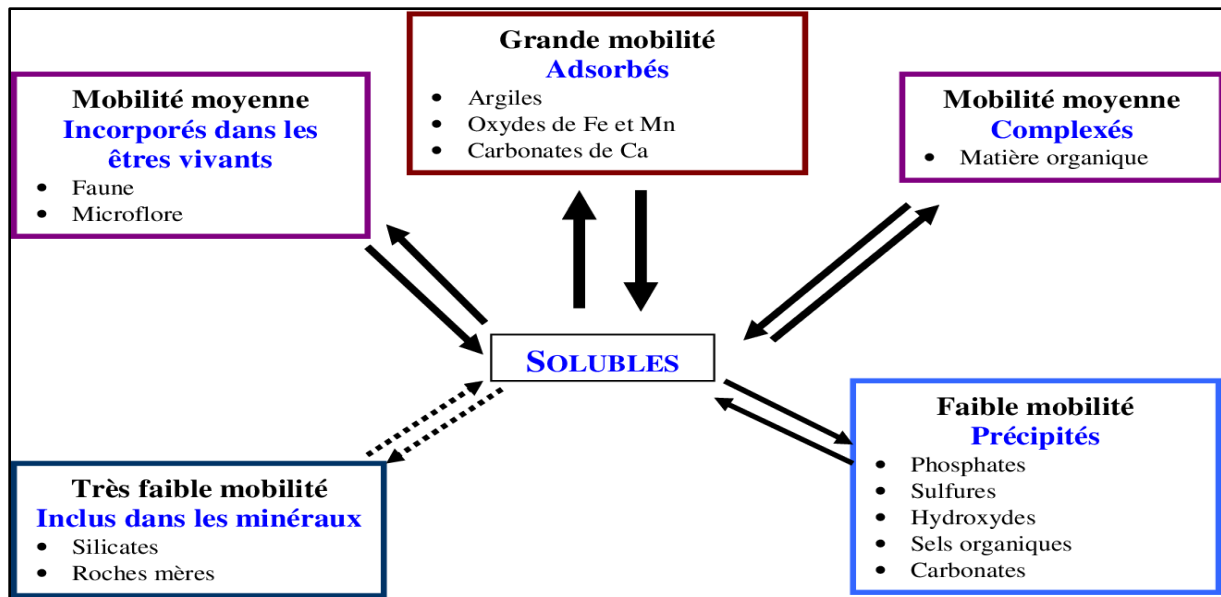


Fig. 2: Mobilité des métaux dans le sol (Juste, 1995).

I.5.1. Principaux facteurs abiotiques influençant la mobilité et la disponibilité des métaux

I.5.1.1. Teneur en colloïdes

Les colloïdes, communément appelés « matériaux argileux » ou « argiles », possèdent des propriétés physico-chimiques jouant un rôle important dans la disponibilité des cations, dont les métaux lourds.

En effet, la charge électronégative des argiles les rend aptes à contracter des liaisons électrostatiques avec toute entité chargée positivement, dont les cations métallique qui sont alors immobilisés (Li et Li, 2000).

I.5.1.2. Capacité d'échange cationique (CEC) :

Les liaisons précédemment citées, s'établissant entre les argiles et les cations, sont réversibles et les cations fixés sont alors échangeables : ils peuvent être remplacés par d'autres cations présents dans la phase aqueuse du sol (Mg^{2+} , Ca^{2+} etc.).

Cette capacité d'échange de cations, ou CEC, exprimée en milliéquivalents pour 100g, est une caractéristique importante de chaque argile car elle conditionne grandement la biodisponibilité d'un métal dans le sol (Li et Li, 2000).

I.5.1.3. Matière organique (MO)

Les métaux lourds peuvent être adsorbés et complexés par la matière organique, formant ainsi un complexe organométallique (Lamy, 2002).

Comme c'est le cas des métaux fixés par les argiles, ces complexes sont réversibles. Cette réversibilité dépend de la capacité d'échange cationique du sol considéré.

I.5.1.4. Potentiel hydrogène (pH)

Le pH est un autre facteur important influençant la solubilité et la spéciation des métaux (**Babich et Stotzky, 1979**).

Quand le pH diminue d'une unité, la concentration des cations métalliques libres augmente d'un facteur deux (2) dans la solution du sol, augmentant ainsi leur biodisponibilité et, par voie de conséquence, améliorant leur extraction (**Sanders, 1983 ; Christensen 1984 ; Sanders et al., 1986**).

I.5.1.5. Potentiel d'oxydoréduction (Eh)

Le potentiel redox, noté Eh, permet de caractériser les échanges d'électrons entre les différentes espèces chimiques. Les faibles valeurs d'Eh favorisent la dissolution des hydroxydes et entraînent ainsi une augmentation de la concentration des métaux associés avec des composants (**Chaignon, 2001**).

En outre, la modification du degré d'oxydation des ligands ou des éléments se liant avec le métal influence indirectement la solubilité des métaux lourds.

Pour l'exemple, en conditions réductrices, les sulfates sont réduits en sulfures qui piègent aisément les éléments métalliques tels que le plomb ou le zinc (**Deneux-Mustin et al., 2003**).

Bien que l'influence des conditions oxydoréductrices du sol semble être très importante au regard de la mobilité des éléments métalliques, il n'en demeure pas moins que ce facteur apparaît comme secondaire comparativement au pH, c'est-à-dire qu'il augmente quand le pH diminue (**Forstner, 1985**).

Le tableau suivant résume les mobilités relatives de certains métaux en fonction du pH et du potentiel d'oxydoréduction.

Tableau 05. Tableau relatif des éléments dans le sol en fonction du pH et du potentiel rédox (Forstner, 1985).

Mobilité Relative	pH		Potentiel rédox	
	Neutre-alkalin	Acide	Oxydant	Réducteur
Très haute	Se, Mo	B	B	-
Haute	As	Zn, Cd, Hg, Co, Ni, (Mn)	Mo, Se	
Moyenne	Mn	Cu, Al, Pb, Cr	Cu, Co, Hg, Ni, Zn, Cd	Mn
Basse	Pb, Fe, Zn, Cd, Ni, Tl	Fe (III), Tl	Pb, Tl	Fe, Zn, Co, Ni, Tl
Très basse	Al, Cr, Hg, Cu, Ni, Co	Mo, Se, As	Al, Cr, Fe, Mn	Al, Cr, Hg, Cu, Se, B, Mo, Cd, Pb

I.5.2. Principaux facteurs biotiques influençant la mobilité et la disponibilité des métaux

La multiplicité des actions et interactions biologiques à tous les niveaux du sol, ainsi que de la diversité des acteurs biologiques présents dans ce milieu – il y aurait en moyenne, 10^7 bactéries, 10^5 champignons, 10^5 protozoaires et 10^4 algues par gramme de sol sec – rendent la compréhension globale des phénomènes biologiques jouant sur la solubilité des métaux lourds dans le sol particulièrement ardue (Robert et Chenu, 1992).

I.5.2.1. Principaux modes d'actions des facteurs influençant la mobilité et la disponibilité des métaux

Principaux modes d'actions sur la mobilité des polluants métalliques sont :

a. Solubilisation,

Provient de la production de composés acides (tel que les acides aliphatiques, carboxyliques, nitriques etc.). Certaines bactéries (*Thiobacillus* par exemple) oxydent les formes réduites du fer et du soufre et produisent de l'acide sulfurique, susceptible de dissoudre les silicates, les phosphates, les oxydes et les sulfures, libérant ainsi les métaux lourds. De même les champignons et les racines des plantes excrètent eux aussi des acides afin d'augmenter leur absorption de nutriments, ou comme déchets métaboliques (Foy *et al.*, 1978 ; Chaignon, 2001 ; Deneux-Mustin *et al.*, 2003). Cette acidification favorise aussi la mobilité des éléments qui ne sont pas indispensables pour le métabolisme végétal.

En outre, plusieurs autres molécules organiques, capables de complexer spécifiquement certains éléments en solution, peuvent également être sécrétées, notamment en cas de carence nutritive. Les sidérophores, composés organiques produits par les bactéries, les champignons et les racines des plantes, en sont un exemple probant. Ces molécules, de faible masse moléculaire, favorisent les déplacements d'éléments métalliques et permettent un transfert diffusif jusqu'aux plantes dans lesquelles ils s'accumulent (**Chaignon, 2001**).

b. Insolubilisation

Très peu documentée, constitue le phénomène opposé à celui décrit ci-dessus. Bien que la détoxification externe des métaux lourds par des exsudats racinaires n'ait jamais été prouvée, certains acides organiques (citons les acides citrique, oxalique ou encore fumarique) qui interviennent dans la complexation intracellulaire d'éléments nutritifs peuvent être libérés dans le milieu extérieur et auraient ainsi pour effet de limiter les transferts des éléments métalliques par des processus de complexation (**Baker et Walker, 1990**).

c. Volatilisation

Quant à elle, repose sur l'action directe qu'ont certains microorganismes sur le degré d'oxydation des certaines espèces métalliques (mercure, arsenic et sélénium). La biométhylation permet le transfert de groupement méthyle directement aux atomes, permettant ainsi leur volatilisation dans l'atmosphère (c'est principalement le cas du plomb, de l'étain, de l'arsenic, de l'antimoine et du sélénium) (**Baker et Walker, 1990**).

Le plomb

II. Plomb

II.1. Généralités sur le plomb

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).

II.1.1. Propriétés physico-chimiques du plomb

Le plomb (Pb) est un élément trace métallique (ETM), de couleur gris bleuté, est un élément ubiquitaire que l'on trouve naturellement dans les sols à la moyenne de 16 ppm.

Le plomb existe sous forme métallique, inorganique et organique. Le plomb métallique est insoluble dans l'eau, très malléable et résistante à la corrosion. Le plomb prend une forme inorganique lorsqu'il s'associe à certains composés pour former des sels de plomb. Parmi les sels de plomb les plus fréquemment rencontrés, on retrouve ceux du chlorure, du chromate, du nitrate, de l'oxyde, du phosphate et du sulfate. Quant au plomb organique, il se présente le plus souvent sous forme de plomb tétraméthyle ($\text{Pb}(\text{CH}_3)_4$) et de plomb tétraéthyle ($\text{Pb}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_4$) (Jaworowski *et al.*, 1978).

Le plomb est classé parmi les métaux lourds et se caractérise selon Cecchi, (2008) par :

- Une forte affinité au soufre.
- Il ne se détruit pas, il se transporte et change de forme en donnant des sels.
- Il a une conductivité élevée, ce qui explique son utilisation dans de nombreuses industries.
- Il présente une certaine toxicité entraînant des lésions plus ou moins graves.

Tableau 06. Propriétés physico-chimiques du plomb (Barbalace J.K., 2012).

Propriétés	Valeurs
Masse molaire	207,2 g/mol
Pression de Vapeur	$4,21 \cdot 10^{-2}$ Pa à 327,6°C
Solubilité dans l'eau	Non soluble à 20°C
Etats d'oxydation	3(0, +2, +4)

II.1.2. Origines de la pollution par le 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.

Le plomb est naturellement présent en moyenne à 0,002% dans la croûte terrestre (36^{ème} élément de la croûte terrestre), généralement sous forme peu soluble. Des dérivés inorganiques sont présents dans les eaux, les sédiments, les sols, l'atmosphère et éventuellement en micro-traces chez les organismes vivants. Les sols non contaminés contiendraient de 10 à 30 mg.kg⁻¹ (Nriagu, 1978; Baiz, 2002).

A l'état naturel, le plomb se retrouve dans l'environnement sous forme de galène (sulfure de Pb), de cérusite (carbonate de Pb), et d'anglésite (sulfate Pb). La forme la plus abondante est la galène, la cérusite et l'anglésite apparaissent lors de l'oxydation de la galène (Brunet, 2008).

Dans l'air, les émissions de plomb provenant de poussières volcaniques véhiculées par le vent sont reconnues d'importance mineure (Pichard, 2003), la majorité du plomb contenue dans l'air ambiante provient de la combustion de l'essence plombée, en milieu urbain environ 90% du plomb est émis dans l'atmosphère par le gaz d'échappement mais la pollution de l'air par le plomb a considérablement diminué depuis l'arrêt des essences plombées (Source CITEPA traitement OPECST).

A ce jour, les principales sources des contaminations en Pb sont les rejets anthropiques. Ils proviennent principalement des industries qui extraient et purifient le Pb naturel et qui recyclent les composants contenant du Pb comme les batteries et leurs retombées atmosphériques contaminent les sols. A ceci s'ajoute les déchets industriels et la détérioration des peintures extérieures à base de Pb. Des rejets provenant des industries sidérurgiques ainsi que les réseaux de canalisations de distribution d'eau anciennes, contenant du Pb, contaminent les eaux (Pichard, 2003).

II.2. Plomb dans le compartiment sol-plante

II.2.1. Plomb dans le sol

II.2.1.1. Origines et comportement du plomb dans le sol

Le plomb est un élément minéral naturellement présent dans la croûte terrestre, en général à de faibles teneurs, son origine dans les sols étant liée à sa présence dans la roche mère. Ceci peut cependant conduire parfois à des teneurs sensiblement plus élevées dans

certaines gisements. Mais, ce sont surtout les dépôts continus de métaux et métalloïdes par les activités humaines qui ont conduit à leur accumulation dans les différents compartiments de l'environnement. Ceci surtout au voisinage des centres urbains et industriels, mais également dans des zones plus reculées (**Sterckeman et al., 2000**).

Dans le sol, le Pb peut se retrouver sous forme ionique, dissout, ou lié plus ou moins fortement aux particules. L'accumulation de Pb provenant des retombées atmosphériques ou de déchets contaminés déposés sur le sol, se fait principalement dans les horizons de surface (**Sterckeman et al., 2000**) et plus précisément dans les horizons riches en matières organiques. Les teneurs en Pb diminuent, ensuite, plus en profondeur (**Abreu et al., 1998**). Ceci s'explique par le fait que le Pb est peu mobile. Etant principalement associé aux argiles, aux oxydes, aux hydroxydes de fer et d'aluminium et à la matière organique, il n'est mobile que lorsqu'il forme des complexes organiques solubles et/ou que le sol a dépassé sa capacité de sorption pour le Pb (**Morlot, 1996; Raskin et Ensley, 2000**).

Le comportement du plomb dans un sol dépend de différents facteurs comme sa dynamique propre mais également des caractéristiques pédologiques et physico-chimiques du sol (**Baize, 1997**). Il peut être soit sous forme liée aux particules de terre soit dans la phase aqueuse. Dans les sols contaminés, la forme chimique initiale et la teneur en polluant apportée ont également une influence. (**Hinsinger, 1996, Dumat et al., 2001 ; Ferrand et al., 2006**). Il est donc fondamental de déterminer la genèse, la répartition, la localisation la configuration des associations du plomb avec les différents constituants du sol.

II.2.1.2. Mobilité du plomb dans le sol

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**), démontre que dans des profils de sol au voisinage des fonderies, le plomb est essentiellement concentré dans les 30 premiers centimètres.

La mobilité du plomb est principalement contrôlée par sa spéciation (forme chimique) en phase aqueuse et par des processus d'adsorption/désorption ainsi que de dissolution/précipitation. Et par le rôle de certains paramètres tels que le pH, le potentiel redox (le potentiel d'oxydoréduction), la composition minéralogique (matière organique, argile, oxyde...) du sol ou su sédiment.

- a. Influence du pH :** C'est le facteur qui influence le plus la mobilité et la biodisponibilité du plomb (**Swaine, 1986**). Les risques de mobilité sont plus grands dans les milieux acides, alors que la solubilité diminue avec l'évolution 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.

- b. 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, 1983). 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 potentiel 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. À l'inverse, ces variations de potentiels redox peuvent entraîner la dissolution de phases porteuses de plomb. (Chuang *et al.*, 1996) observent une augmentation de la solubilité du plomb et du zinc lorsque le potentiel redox diminue.
- c. 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 absorbantes (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.

Les microorganismes peuvent aussi 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 (Ernet WHO, 1996).

II.2.2. Plomb dans la plante

II.2.2.1. 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 al., 2005**), est biodisponible pour une plante (phytodisponible), la fraction d'un élément susceptible d'être absorbée par les racines.

La phytodisponibilité des ETM est fortement corrélée à la concentration d'espèces ioniques dans la solution du sol (**Kabata-Pendias et Pendias , 1992**). 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.

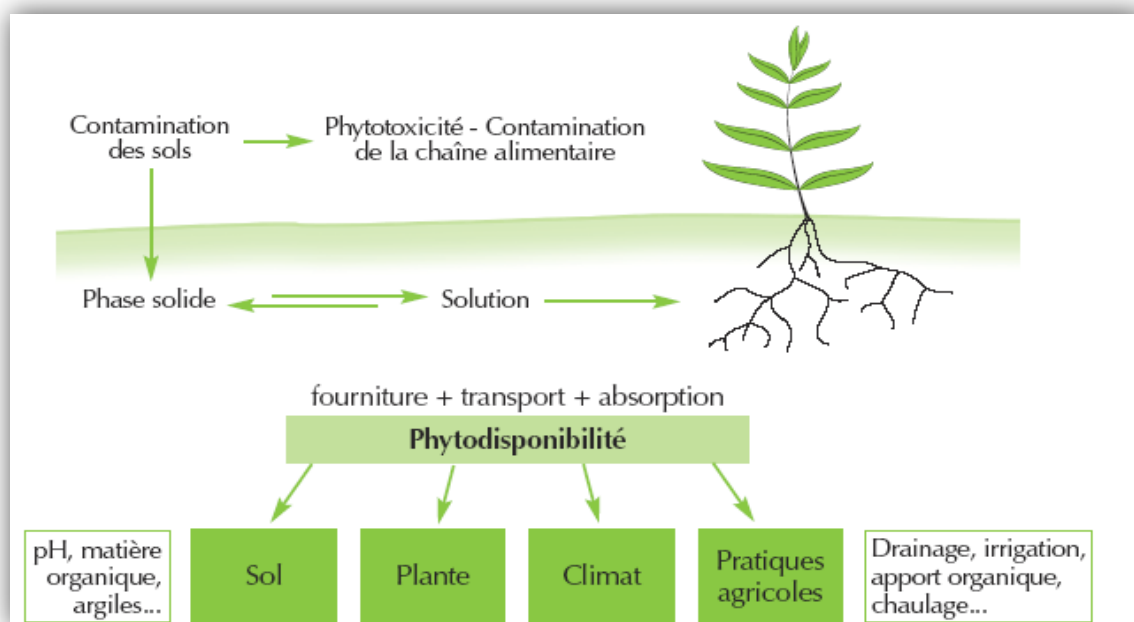


Fig.3 : Exprime la phytodisponibilité des éléments traces dans les sols (**Morel, 1996**).

II.2.2.2. Absorption du plomb par la plante

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., 2011**).

II.2.2.2.1. Absorption foliaire

Bien qu'elle ait été peu étudiée par rapport à l'absorption racinaire, l'assimilation du plomb par les feuilles peut représenter une part importante dans le taux de contamination de la plante. Le plomb peut être apporté sur les feuilles par des retombées atmosphériques, mais également dans les champs par des apports en engrais et pesticides (plomb sous forme d'impuretés). La majorité de ce plomb est lessivée, mais une partie va s'adsorber aux lipides épicuticulaires et être absorbée par les feuilles (**Prasad MNV et Hagemeyer, 1999; Hovmand et al; 2009**). La capacité des plantes à absorber le plomb disponible via leurs feuilles dépend à la fois de l'âge de celles-ci, mais également de leurs morphologies. Dans le cas de « légume feuilles », comme l'épinard, ou de céréales, comme le blé, exposés à de fortes retombées atmosphériques, la quantité de métal absorbée par les parties aériennes peut atteindre jusqu'à 95 % de la quantité totale absorbée (**Dalenberg et Van Driel, 1990**).

II.2.2.2.2. Mécanisme d'absorption sur les racines

En dehors de certaines zones où la teneur atmosphérique en plomb est importante, ce dernier pénètre majoritairement dans la plante via les racines. Les couches supérieures du cortex racinaire (rhizoderme et collenchyme/parenchyme) constituent une barrière physique contre la pénétration du plomb dans la racine. Le mécanisme, ou plus vraisemblablement les mécanismes par lesquels ce métal arrive à pénétrer dans les racines ne sont pas encore élucidés. Toujours est-il que dans un premier temps le plomb présent dans la solution du sol s'adsorbe à la surface de cet organe. Il peut se lier aux groupements carboxyles des acides uroniques composant le mucilage racinaire ou directement aux polysaccharides présents à la surface des cellules rhizodermiques. Cette fixation en surface permet de restreindre le passage du plomb à l'intérieur de la racine (**Glinski et Lipiec, 1990**).

La formation de plaques d'oxydes et d'hydroxydes de fer à la surface racinaire est assez courante. Du fait de leur capacité à adsorber de grandes quantités de métaux, ces plaques limitent la pénétration des métaux dans la racine (**Otte ML et al., 1987**). Cependant, dans le cas du plomb, ces plaques semblent jouer un rôle de barrière physique moins important que

pour d'autres métaux (Ye ZH *et al.*, 1998).

Les mycorhizes peuvent également constituer une barrière supplémentaire protégeant le système racinaire du plomb, en modifiant l'adsorption des métaux à la surface des racines (Hall, 2002).

II.2.2.3. Mécanismes d'absorption racinaire

Du fait des risques de contamination de la chaîne alimentaire par le plomb, L'absorption racinaire a fait l'objet de nombreuses recherches sur diverses espèces végétales.

De ce fait, ces études ont porté essentiellement sur les céréales, comme l'orge et le blé (Tanton et Crowdy (1971), le maïs (Tung et Temple, 1996), ou les légumes, comme la laitue (Glater et Hernandez, 1972), le radis (Lane et Martin, 1977) et l'oignon. Ces travaux ont révélé que le plomb, après s'être fixé au rhizoderme, pénétrait dans le système racinaire de façon passive et suivait le système de conduction de l'eau. Cette absorption n'est pas uniforme le long de la racine, puisqu'il existe un gradient de concentration en plomb dans les tissus à partir de l'apex, qui est la zone la plus concentrée (Tung et Temple, 1996; Seregin *et al.*, 2004). Les tissus jeunes, et en particulier la zone apicale (en dehors de la coiffe) où les cellules possèdent des parois encore fines, sont les zones absorbant le plus de plomb (Wierzbicka, 1987 ; Seregin *et al.*, 2004). Cette région apicale correspond également à la zone où le pH rhizosphérique est le plus bas. Ce pH bas favorise la solubilité du métal et conduit à une élévation locale de la concentration en plomb dans la solution du sol.

Au niveau moléculaire, le mécanisme de pénétration du plomb dans les cellules du rhizoderme n'est toujours pas encore connu. Il semblerait que le plomb puisse rentrer par plusieurs voies d'accès, notamment des canaux ioniques et/ou des transporteurs ioniques. Le plomb profiterait de la non-spécificité de certains de ces canaux/transporteurs et de la très forte différence de potentiel membranaire dans les cellules du rhizoderme (Hirsch *et al.*, 1998), pour diffuser à l'intérieur de la racine.

L'absorption du plomb est donc une absorption passive, mais nécessite une dépense énergétique de la cellule pour maintenir ce potentiel très négatif. Le maintien de ce potentiel s'effectue notamment par l'excrétion de protons dans le milieu extérieur, via des pompes H⁺/ATPase. Dans des blés traités au plomb, l'utilisation de vanadate, un inhibiteur de ces pompes, a permis de limiter fortement l'absorption de ce métal (Wang *et al.*, 2007).

II.2.2.3.1. Voies d'absorption racinaire

Cette absorption peut se faire de plusieurs manières. Soit la pénétration grâce à un transport actif interne par le symplaste (cytoplasmes des cellules reliés entre eux par les

plasmodesmes), ou bien par voie passive ou apoplastique, c'est-à-dire par un transport dans les espaces intercellulaires (ou espaces libres apparents). (Figure 4).

II.2.2.3.1.1. Voie apoplastique

De nombreuses études histologiques ont permis de montrer que le plomb était transporté essentiellement dans l'apoplaste, Fig.4 et qu'il suivait les mouvements d'eau à l'intérieur de la plante (Tanton et Crowdy, 1971 ; Lane et Martin, 1977).

Ce phénomène s'arrête le plus souvent au niveau de l'endoderme, du fait de la présence de cadres de subérines, ou bandes de Caspary, qui bloquent le passage des molécules et des ions. A ce moment là, l'eau et les molécules sont obligées de traverser les membranes plasmiques des cellules de l'endoderme, afin de pouvoir parvenir dans le cylindre central contenant les vaisseaux du xylème. Après avoir traversé la membrane plasmique de la face interne de l'endoderme, les ions peuvent à nouveau reprendre le chemin apoplastique. Il reste néanmoins possible qu'une faible partie de l'absorption des ions se fasse par l'apoplasme complètement Par les cellules de transferts (Cellules non subérifiées de l'endoderme) (Cecchi, 2008). le plomb peut migrer relativement vite (Wierzbicka, 1987).

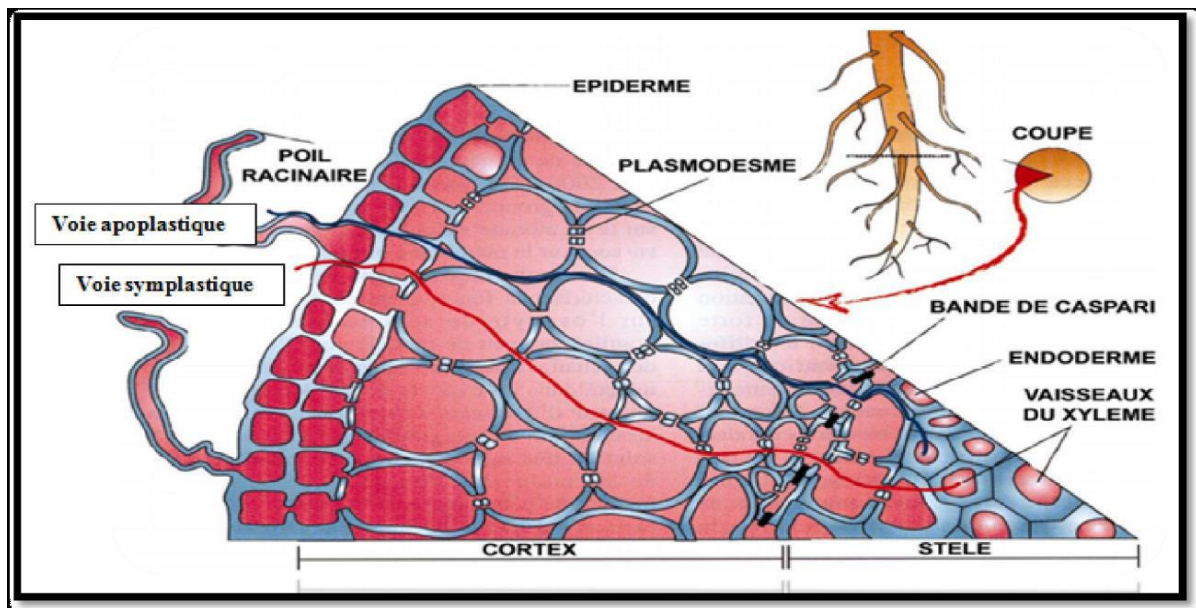


Fig.4 : Trajet des éléments métalliques de la surface des racines jusqu' au cylindre central par voie apoplastique (en bleu) et voie symplastique (en rouge) (Kirpichtchikova, 2009).

II.2.2.3.1.2. Voie symplastique

La pénétration du plomb dans les racines par cette voie se fait grâce à un transport actif interne par le symplaste (cytoplasmes des cellules reliés entre eux par les plasmodesmes). Après avoir traversé la paroi cellulaire, les ions métalliques atteignent la surface de la

membrane plasmique, puis pénètrent dans le symplaste. Ensuite, ces ions métalliques peuvent passer d'une cellule à l'autre en empruntant les plasmodesmes, qui relient les cellules Fig.4.

La quantité de ce métal passant par cette voie est marginale par rapport à la voie apoplastique, et peu d'études en ont fait état. Cependant, elle a une importance capitale dans la toxicité du plomb car c'est cette fraction, passant par le symplaste, qui cause la majorité des effets délétères observés. Les mécanismes de pénétration dans le symplaste ne sont pas clairement identifiés. Pourtant, à des doses non létales, le plomb pénètre uniquement dans le symplaste dans les zones de divisions cellulaires actives, comme la zone apicale (**Tung et Temple, 1996**) ou le protoderme (**Wierzbicka, 1998**). En effet, les cellules jeunes ne possèdent pas encore de paroi secondaire et leur paroi primaire est très fine.

II.2.2.4. Transfert du plomb des racines vers les parties aériennes

Après l'absorption par les racines, la translocation correspond au transfert des éléments traces métalliques 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). Ce flux d'ions métalliques dans le xylème nécessite leur chélation à des acides organiques (tels que le citrate) ou à des acides aminés (comme l'histidine) (**Briat et Lebrun, 1999**).

Pour la 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. Ce transport limité des racines vers les feuilles peut être expliqué par la barrière formée par l'endoderme des racines. Les bandes de Caspary peuvent en effet être un facteur majeur limitant le franchissement de l'endoderme jusqu'au cylindre central (**Seregin IV et al, 2004 ; Sharma et Dubey, 2005**). Pour illustrer ce propos, différents auteurs ont défini un facteur de translocation, qui est calculé comme suit (**Mattina et al., 2003 ; Tanhan et al., 2007**).

$$\frac{[\text{Pb}] \text{ parties aériennes}}{[\text{Pb}] \text{ racines}}$$
 cette restriction du transport vers les parties aériennes représente un facteur de tolérance des plantes à la présence de contaminants dans leur milieu de culture. En effet, il est important que le moins de plomb possible soit transféré vers les feuilles, car c'est un élément toxique, notamment pour l'activité photosynthétique, pour la synthèse de chlorophylle ou encore pour la synthèse d'enzymes anti-oxydantes (**Kim YY et al, 2003**).

Tableau 07. Concentration en éléments traces dans les parties aériennes de plantes (mg/kg MS) (Kabata-Pendias et Pendias, 1992).

Élément	Teneurs normales	Teneurs en excès ou toxiques	Teneurs tolérables pour plantes de grande culture
Cd	0.05-0.2	5-30	3
Cr	0.1-0.5	5-30	2
Cu	5-30	50	50
Hg	-	0.5-1	-
Ni	0.1-5	10-100	50
Pb	5-10	30-300	10
Se	0.01-2	5-30	-
Zn	27-150	100-400	300

II.3. Effets du plomb

II.3.1. Effets généraux du plomb sur la plante

La toxicité du plomb dépend de sa concentration dans le milieu, de sa spéciation, des propriétés du sol, et enfin de l'espèce végétale concernée. Les plantes mettent en place diverses barrières physiques pour se protéger, quand le plomb a réussi à passer à travers ces barrières de protection, il peut affecter de nombreux processus physiologiques de la plante.

Les premiers effets ne provoquent pas de symptômes visibles, ceux-ci ne se manifestant qu'en cas de toxicité avancée (Cecchi, 2008).

Le premier effet des métaux lourds observable chez les végétaux est une inhibition de la croissance. Celle-ci s'accompagne très souvent de nombreux autres indices de dysfonctionnement : chlorose foliaire, importantes lésions nécrotiques, jaunissement progressif, repliement ou dessèchement du feuillage, les bases moléculaires de ces perturbations sont encore mal connues, mais on admet généralement qu'elles résultent d'un stress oxydatif, dû à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou « Réactive Oxygen Species » (ROS). Qui altèrent toute une série de substrats biologiques importants, et modifient les domaines fonctionnels des biomolécules pouvant conduire à la mort cellulaire (Cheng, 2003).

II.3.2. Effet sur les activités enzymatiques

Le plomb peut inhiber l'action de certains enzymes. Notamment celles qui possèdent un groupement –SH, ce dernier présentant une forte affinité pour le plomb.

Dans la plupart des cas, l'inhibition se fait par interaction du plomb avec ce groupement qui est indispensable pour l'activité et le bon fonctionnement des enzymes, ou en remplaçant un autre élément comme le Fe dans leur site actif mais aussi en modifiant leur structure (**Hall, 2002**).

Le plomb affecte donc la conformation de nombreuses enzymes et les empêchant de fonctionner convenablement (**Sergin et Ivanov, 2001**).

Parmi les enzymes fondamentales qui peuvent être inhibées par le plomb, se trouvent des enzymes impliquées dans la biosynthèse de la chlorophylle ou bien la RUBISCO qui permet la fixation du CO² (**Sergin et Ivanov, 2001 ; Patra et al., 2004**).

L'inhibition de ce type d'enzyme entraîne une forte perturbation de la photosynthèse.

II.3.3. Effet 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, P et Zn en bloquant leur entrée ou en se liant à eux, les rendant indisponibles pour les plantes (**Xiong, 1997**).

La présence de plomb entraîne une diminution du contenu en potassium dans tous les tissus du concombre, ainsi qu'une diminution du calcium dans les cotylédons et l'hypocotyle, mais aussi du fer dans les racines (**Burzynski, 1987**).

Le plomb affecte aussi le métabolisme azoté en diminuant le prélèvement de nitrate et en perturbant le fonctionnement la nitrate réductase (**Sergin et Ivanov, 2001**).

II.3.4. Effet sur la santé humaine

Le plomb est un élément très toxique, provoque la maladie du saturnisme. Ses principaux organes cibles sont le système nerveux, les reins et le sang. Cette maladie se caractérise par une anémie et une perturbation du métabolisme par compétition avec les ions Ca²⁺ (**Casas, 2005**).

Tableau 08. Voie d'exposition au plomb chez l'homme (BRGM, 2004).

Alimentation	Ingestion	Plantes contaminées par des retombées atmosphériques et/ou accumulation depuis le sol Gibier Stockage des aliments
Poussière	Inhalation	Poussières fines Fumées de cigarettes Emission automobiles
Peinture	Ingestion Inhalation	Ecailles de peintures anciennes Poussières de peinture lors des travaux de rénovation ingestion du sol par les jeunes enfants (pica)
Activités professionnelle/loisirs	Inhalation	Métallurgie du plomb Fabrication d'accumulateur et de batteries Récupération des métaux Soudure Décapages des vieilles peintures manipulation des pigments Poussières Activité de poteries, Imprimerie artisanale...

*Tolérance au plomb
chez les végétaux*

III. Tolérance au plomb chez les végétaux

III.1. Tolérance et détoxication

La tolérance aux métaux lourds de certaines plantes peut être définie comme la capacité à survivre dans un milieu qui serait toxique aux autres plantes (non tolérantes). La détoxication peut-être définie comme l'ensemble des processus permettant aux plantes d'acquérir une tolérance, protégeant la plante contre l'altération des cellules grâce à divers mécanismes présentés ci-dessous. Ce terme de détoxication englobe tous les processus, stratégies, ou mécanismes qui permettent de minimiser le potentiel d'un métal à interagir de manière nuisible avec des macromolécules essentielles (**Mason & Jenkins, 1995**). En corollaire, tout exemple d'acclimatation, de tolérance ou résistance à des métaux pourra être interprété comme une preuve de l'existence d'un système de détoxication.

III. 1.1. Mécanismes généraux de tolérance et détoxication

Les stratégies des plantes pour éviter l'accumulation de métaux sont diverses. Il existe des stratégies extracellulaires (rôle des mycorhizes, de la paroi cellulaire et des exsudats cellulaires) ou qui implique la membrane plasmique (réduction de l'entrée de métaux en stimulant l'efflux du cytosol). D'autres mettent en œuvre la réparation de protéines endommagées (grâce aux « heat shock proteins » ; HSP), la chélation des métaux par les acides organiques, acides aminés ou peptides (comme les métallothionéines ; MT) ou leur compartimentation loin des processus métaboliques, par transport dans la vacuole (**Hall, 2002**). La possibilité de l'expression de mécanismes généraux de réponse au stress, comme la voie de l'éthylène ou du jasmonate, et des protéines de stress (**Cobbett, 2000**).

De manière générale, des complexes chélatant-métal peuvent être formes dans le cytosol, puis transfères dans la vacuole, compartiment intracellulaire de stockage et de détoxication chez la plante (les éléments qui y sont séquestres ne peuvent plus interférer avec le métabolisme cellulaire). Les acides carboxyliques (riches en oxygènes) comme l'acide citrique ou l'acide malique sont des ligands potentiels pour les métaux lourds et peuvent jouer un rôle dans la tolérance et la détoxication. Ils jouent peut-être un rôle dans la séquestration des ions métalliques dans la vacuole (**Rausser, 1999**).

III.1.2. Phytochélatines, une classe particulière de peptides

La chélation des métaux dans le cytosol par des ligands à haute affinité est un mécanisme très important de détoxification et de tolérance aux métaux lourds. Parmi ces ligands potentiels, une classe particulière de peptides, les phytochélatines (PC). Isolés pour la première fois en 1985 à partir de cultures cellulaires en suspension, les PC sont des peptides thiolés de structure générale $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{Gly}$, avec n compris entre 2 et 11, généralement entre 2 et 5. Leur poids moléculaire est compris entre 1,5 et 4 kDa. Leur expression est rapidement induites dans les plantes soumises à un stress aux métaux lourds (**Zenk, 1996; Cobbett, 2000; Hall, 2002**). Les PC sont rapidement synthétisées dans les cellules et tissus exposés aux ions métalliques par des PC-synthases (des transpeptidases constitutives activées en présence d'ions métalliques) à partir du glutathion (GSH, $\gamma\text{-Glu-CysGly}$ ou dans quelques cas, des composés proches). La production de PC en réponse à un stress métallique est variable selon l'espèce et l'ion métallique considérés (**Pal & Rai, 2010**).

La fonction primaire des PC chez les plantes et les algues n'est pas clairement définie ; toutefois les PC jouent un rôle dans l'homéostasie cellulaire et le trafic d'éléments essentiels comme le cuivre et le zinc, et la détoxification, la tolérance et l'accumulation de métaux non essentiels comme le cadmium (**Schat *et al.*, 2002; Pomponi *et al.*, 2006; Pal & Rai, 2010**).

De surcroit, la chélation des métaux par les PC pourrait agir en synergie avec des mécanismes antioxydants secondaires. Par exemple, (**Ranieri *et al.*, 2005**) se sont penchés sur le stress oxydant et la production de PC chez le ble (*Triticum aestivum*) engendrés par une exposition au cadmium. Dans les 83 feuilles, le stress oxydant généré par la présence de cadmium était neutralisé par la synthèse de PC (réponse antioxydante). En revanche, dans les racines, la protection antioxydante de quantités élevées de PC2, PC3 et PC4, déclinait, ce qui se manifestait par une accumulation de H_2O_2 .

III.1.3. Métallothionéines (MT)

Les métallothionéines (MT) sont des protéines de faibles poids moléculaire, riches en cystéines et largement distribuées dans le monde vivant. Si les métallothionéines sont impliquées majoritairement dans le transport et la régulation des métaux essentiels tels le cuivre et le zinc (**Kohler *et al.*, 2004 ; Roosens *et al.*, 2004 ; Zhang *et al.*, 2004**), elles peuvent également se lier aux éléments métalliques non essentiels au développement des végétaux. **Ma *et al.*** ont en effet montré que des métallothionéines de *Festuca rubra* pouvaient fixer du plomb et du chrome (**Ma *et al.*, 2003**).

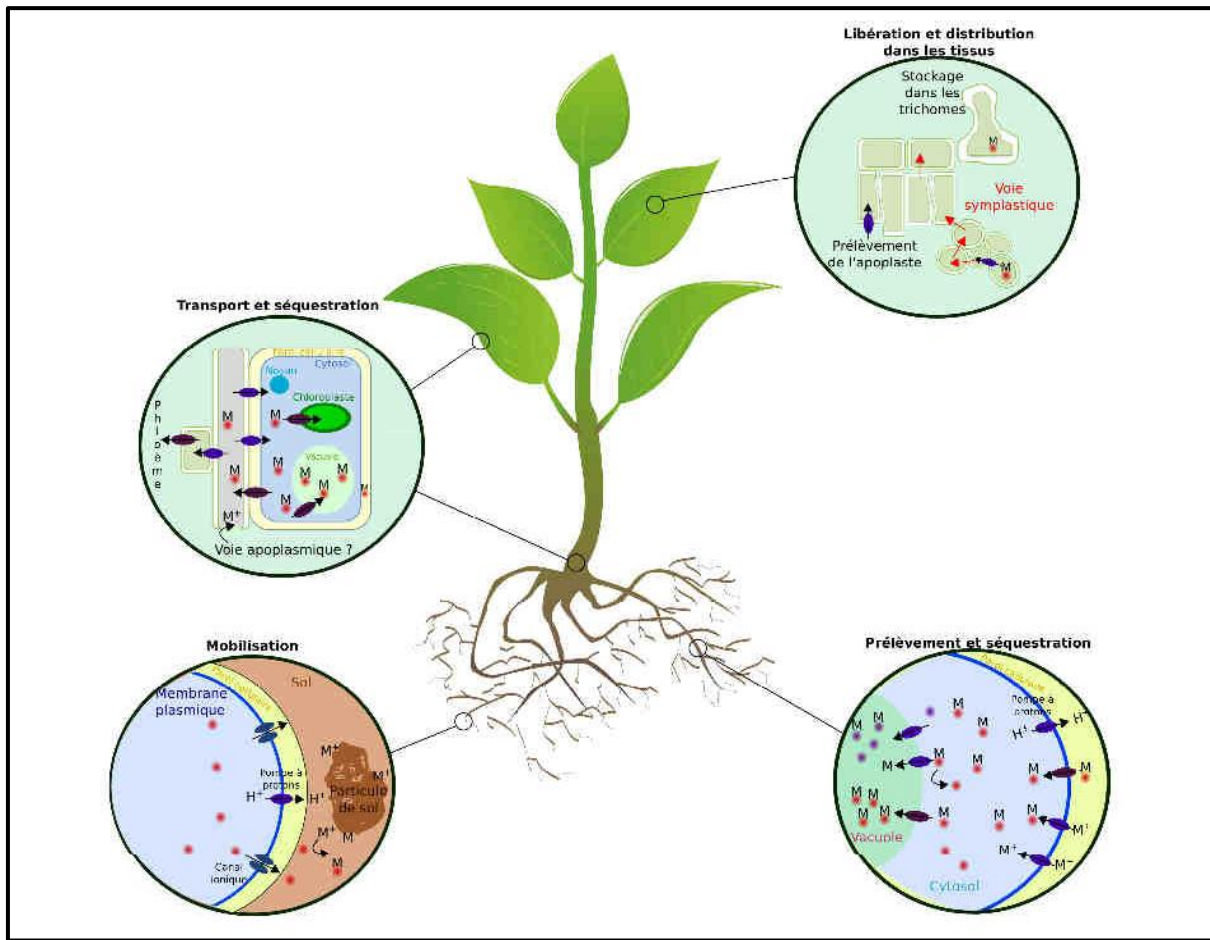


Fig.5 : Voies de prélèvements des métaux par la plante et mécanismes moléculaires impliqués dans l'absorption et le transport de ces métaux. (adaptée d'après **Clemens *et al.*, 2002 ; Peer *et al.*, 2005**). Les ions métalliques sont mobilisés par des ligands et acidification de la rhizosphère. Les métaux entrent par les racines par voie symplastique et apoplastique, complexés ou non à des ligands. A l'intérieur de la cellule, les métaux sont complexés à des ligands et l'excès de métal est transporté dans la vacuole. Depuis les racines, les métaux sont transportés jusqu'aux parties aériennes *via* le xylème. La plus grande proportion atteindrait le xylème par voie symplastique. Au sein du xylème, les métaux sont présents comme ions hydratés ou complexés à des ligands. Après avoir atteint l'apoplasme des feuilles, les métaux se déplacent de cellule en cellule par les plasmodesmes. Le stockage peut se faire, entre autre, dans les trichomes et les vacuoles. Les métaux sont représentés par M ou M⁺, les ligands, par les cercles pleins et les transporteurs par les formes ovales pleines.

III.1.2.1. Antioxydants

III.1.2.1.1. Définition

Une molécule peut être considérée comme antioxydante, si elle est présente en une faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou empêche significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell et Whiteman, 2004).

III.1.2.1.2. Principaux systèmes non enzymatiques

❖ Vitamine C

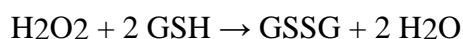
L'acide ascorbique (ASC) est un des principaux acides faibles de la cellule végétale. Aux pH physiologiques, et est essentiellement utilisé au niveau cellulaire comme un donneur d'électrons (Pourrut, 2008). L'ascorbate est toutefois beaucoup plus connu pour ses propriétés antioxydantes (Navas *et al.*, 1994; Foyer and Noctor, 2005).

En effet, il réagit rapidement avec l'anion superoxyde et l'oxygène singulet, ou encore avec le peroxyde d'hydrogène, mais cette dernière réaction est catalysée par l'ascorbate peroxydase (APX). L'ascorbate est indispensable par sa capacité à réduire d'autres antioxydants oxydés comme la vitamine E ou les caroténoïdes (Asada, 1994).

❖ Glutathion

Le glutathion est un thiol très abondant se retrouvant de façon ubiquitaire chez les plantes, donneur d'électrons adéquat dans les réactions physiologiques, le glutathion joue de nombreux rôles physiologiques chez les végétaux (May *et al.*, 1998), c'est un précurseur des phytochélatines (PC) jouant un rôle prédominant dans la séquestration des métaux chez les végétaux. Il est aussi impliqué dans la régulation redox du cycle cellulaire (Gyuris *et al.*, 1993; Noctor *et al.*, 1998).

La synthèse de GSH est stimulée lors des différentes situations de stress et son accumulation est souvent concomitante avec celle des ERO (Noctor *et al.*, 1998; Potters *et al.*, 2002). Le GSH peut directement réduire l'H₂O₂ mais également d'autres ERO, des hydroperoxydes organiques et des peroxydes lipidiques :



❖ Vitamine E

C'est un antioxydant clé dans la protection de l'intégrité des membranes, en particulier celles des chloroplastes. Il protège également les pigments photosynthétiques, participant ainsi à la protection de l'appareil photosynthétique (Fryer, 1992).

La vitamine E désigne un groupe de composés lipophiles possédant l'activité biologique de l' α -tocophérol qui est un piègeur d'oxygène singulet et de radical hydroxyle (**Krieger-Liszkay et Trebst, 2006**). Sa localisation, au niveau des membranes, en fait l'antioxydant le plus important dans la prévention de la peroxydation des lipides membranaires (**Fryer, 1992**). Par ailleurs, il peut réduire les peroxydes lipidiques et bloquer la réaction en chaîne de peroxydation lipidique s'initiant après la peroxydation d'acides gras polyinsaturés (**Collin et al., 2008**).

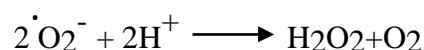
❖ Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux lipophiles formant une famille de plus de 600 molécules. Ils jouent le rôle de pigments accessoires de l'antenne collectrice des photosystèmes et participent à la protection de l'appareil photosynthétique contre les ERO (**Asada, 1994 ; Miller et al., 1996**). En effet, ces pigments possèdent la capacité de capter l'énergie de la chlorophylle ou de l'oxygène (**Telfer et al., 1994 ; Mozzo et al., 2008**). La capacité de transfert d'énergie des caroténoïdes vers le dioxygène étant faible, ces pigments retrouvent leurs états initiaux en perdant leurs énergies sous forme de chaleur (**Demmig-Adams et Adams, 1996**).

III.1.2.1.3. Principales enzymes antioxydantes

❖ Superoxydes dismutases (SOD)

Sont responsables de la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), selon la réaction :



Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal divalent situé au cœur de l'enzyme. Selon la nature de ce métal on distingue les superoxyde-dismutases à manganèse (Mn-SOD) localisées dans les mitochondries, les superoxyde-dismutases à cuivre-zinc (Cu/Zn-SOD), cytosoliques et enfin, les superoxyde-dismutases à fer ferreux (Fe-SOD) (**Remon, 2006**).

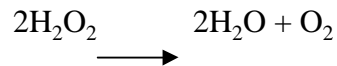
Lors d'un stress oxydant provoqué par le Pb l'activité de toutes ces enzymes va être modifiée. L'activité des POD va augmenter dans les racines et les feuilles de la plante.

Les SPOD (POD membranaires) seraient impliquées dans la biosynthèse de la lignine, la lignification des racines permettrait à la plante de diminuer l'absorption du Pb (**Cuypers et al., 2002**) mais cela peut aussi conduire à une inhibition de la croissance des racines.

D'autres enzymes sont impliqués dans la réponse au stress oxydant dans les cellules et permettrait l'augmentation de l'activité des enzymes impliquées dans la défense contre les ROS en activant leurs gènes (**Gupta et al., 1999, Cuypers et al., 2000**).

❖ Catalases (CAT)

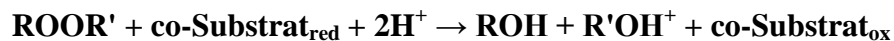
Sont contenues dans les peroxysomes et dans le cytosol. Elles agissent en synergie avec les SOD puisque leur rôle est de catalyser la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante (**Noctor et Foyer, 1998**) :



Bien qu'elle ait été longtemps considérée comme une des enzymes antioxydantes les plus importantes, il semble désormais que son importance dans la détoxification de l' H_2O_2 soit réduite, en dehors de celui issu du métabolisme peroxysomale (**Halliwell, 2006 ; Pitzschke et al., 2006**).

❖ Peroxydases (POX)

Les POX (EC 1.11.1.x) sont une large famille multigénique d'enzymes hémiques catalysant la réduction d'un substrat oxydé en utilisant de nombreux co-substrats comme donneurs d'électrons, par exemple l'ascorbate ou le glutathion. Pour la majorité de ces enzymes, le substrat optimal est le peroxyde d'hydrogène, mais elles peuvent facilement réduire des hydroperoxydes organiques ou des peroxydes lipidiques :



Dans certaines conditions, une partie des POX peut avoir une activité similaire à la catalase, c'est-à-dire qu'elles possèdent la capacité de réduire l' H_2O_2 en absence de co-substrat (**Mika et al., 2004**).

Phytoremédiation

IV. Phytoremédiation

IV.1. Généralités sur la phytoremédiation

Il existe plusieurs méthodes de dépollution des sols. Les méthodes physico-chimiques présentent l'inconvénient d'être coûteuses et lourdes à mettre en œuvre. 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 (Gadd, 2000).

IV.2. Définition de la phytoremédiation

Le terme phytoremédiation vient du préfixe grec « phyto » (plante) et du mot latin *remedium* (pour corriger ou éliminer un mal) (Ghosh et sing, 2005).

La phytoremédiation ou la bioremédiation est une nouvelle technologie qui utilise les plantes vertes et/ou des microorganismes associés (ex. bactéries, champignons) pour le nettoyage d'un environnement pollué par les métaux lourds et les métalloïdes (Smits EAHP et Freeman, 2006 ; Lam *et al.*, 2010).

IV.3. Principe de la technique de phytoremédiation

La phytoremediation (ou phytorestauration) est la dépollution par les végétaux, des sols, des sédiments ou des eaux souterraines.

Les substances toxiques responsables de cette pollution sont soit des molécules organiques comme les pesticides, soit des métaux présents en quantités importantes. Dans le cas des molécules organiques, les processus de décontamination des sols font souvent appel aux microorganismes telluriques qui sont efficaces dans la dégradation de ces composés ce qui en fait chuter la toxicité. Il est possible d'utiliser des végétaux dans la même optique : c'est la phytodégradation (Michelon . 1999).

IV.4. Différentes techniques de la phytoremédiation

Il existe plusieurs stratégies de phytoremédiation des sols contaminés par les métaux. On distingue :

IV.4.1. Phytoextraction

La phytoextraction correspond à l'extraction de polluants organiques et/ou inorganiques (Baraud, 2002), présentes dans leur environnement. La source de ces substances peut être l'eau, l'air ou le sol (Blaylock *et al.*, 1997 ; McGrath *et al.*, 2000).

La phytoextraction s'applique aux métaux (par exemple, Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn), aux métalloïdes (par exemple, As, Se), aux radionucléides (par exemple, ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{234}U , ^{238}U), et aux non-métaux (par exemple, B) (Cornish *et al.*, 1995 ; Kumar *et al.*, 1995 ; Salt *et al.*, 1995 ; Bañuelos *et al.*, 1999).

Elle consiste à utiliser des récoltes successives d'espèces hyperaccumulatrices de métaux pour tenter de dépolluer les sols (Salt *et al.*, 1998).

La phytoextraction en général présente l'avantage d'extraire les métaux lourds se trouvant dans le sol en faible concentration et de les accumuler dans les parties récoltables de la plante (Mulligan *et al.*, 2001), dans des organes aériens faciles à récolter (McGrath *et al.*, 2000). Cette biomasse contaminée est ensuite fauchée et exportée pour être, dans la plupart des cas, incinérée. Les cendres obtenues (bio-minerais) sont soit réintroduites dans le cycle métallurgique soit confinées dans un lieu étanche (Brooks, 1998 ; Bert *et al.*, 2000).

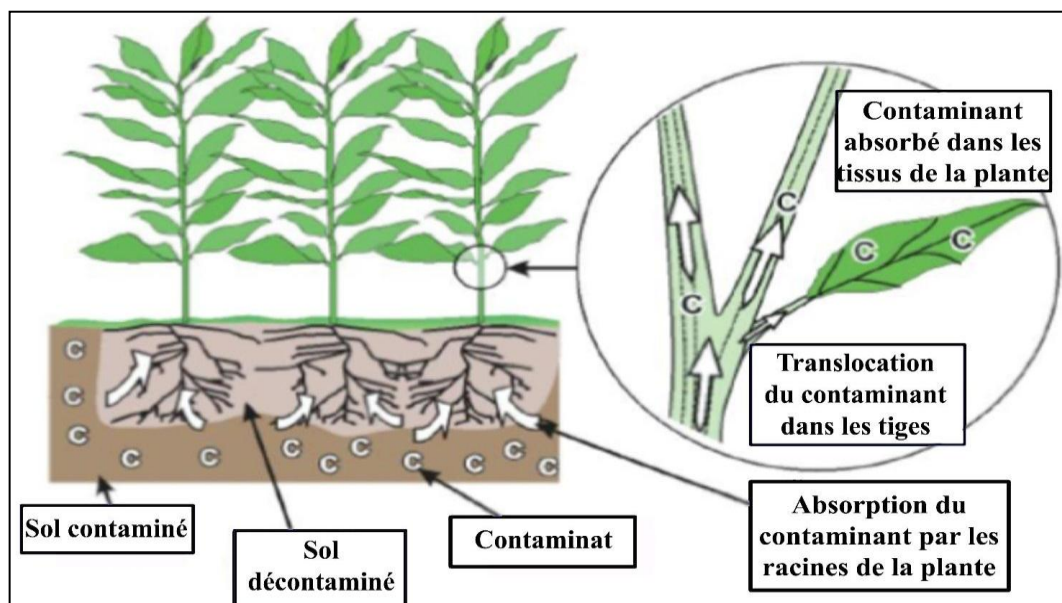


Fig.6: Processus de phytoextraction (ITRC, 2001).

IV.4.1.1. Phytoextraction naturelle

Pour qu'une plante soit adéquate pour la phytoextraction d'un polluant donné, elle doit être capable durant toute sa vie résister à la toxicité du polluant et de l'accumuler dans ses parties aériennes. En effet, la phytoextraction naturelle utilise des plantes hyperaccumulatrices qui peuvent naturellement extraire des teneurs importantes de métaux présents sur des sols pollués sans présenter de signes de phytotoxicité (Quartacci *et al.*, 2006 ; Zheng *et al.*, 2011).

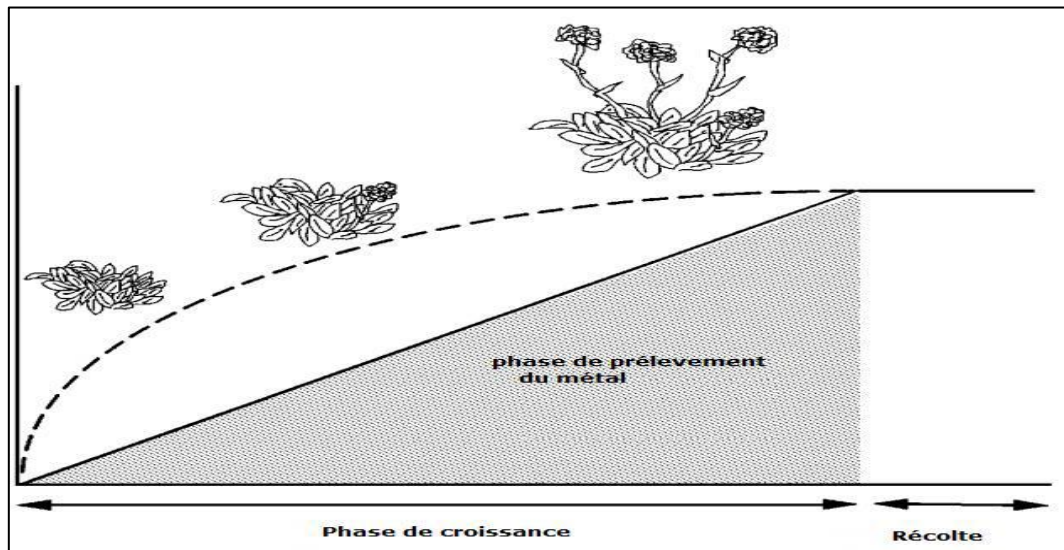


Fig.7: Schéma représentant une phytoextraction continue : La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne (Salt *et al.*, 1998).

IV.4.1.2. Phytoextraction induite ou assistée par des chélateurs

Elle est basée sur l'utilisation de chélateur permettant à des plantes non hyperaccumulatrices mais de biomasse importante d'absorber des teneurs élevées en métaux à partir d'un site pollué. La solubilité des métaux est accrue par des chélateurs tels que l'acide citrique, l'EDTA et l'EDDS. Ils sont appliqués soit directement sur le sol ou en conditions hydroponiques (Saifullah *et al.*, 2009 ; Shahid *et al.*, 2011 ; Zheng *et al.*, 2011) soit en pulvérisation foliaire (Meers et Tack, 2004). C'est ainsi que l'EDTA a permis d'améliorer la mobilisation et le transport subséquent du Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn par la moutard indienne et le tournesol (Ann-Peer *et al.*, 2003). Cependant, la haute solubilité dans l'eau de certains complexe chélateur-toxique peut résulter dans leur déplacement vers les couches plus profondes du sol et ceci constitue un risque potentiel important de contamination de l'eau et des estuaires (Ann-Peer *et al.*, 2003).

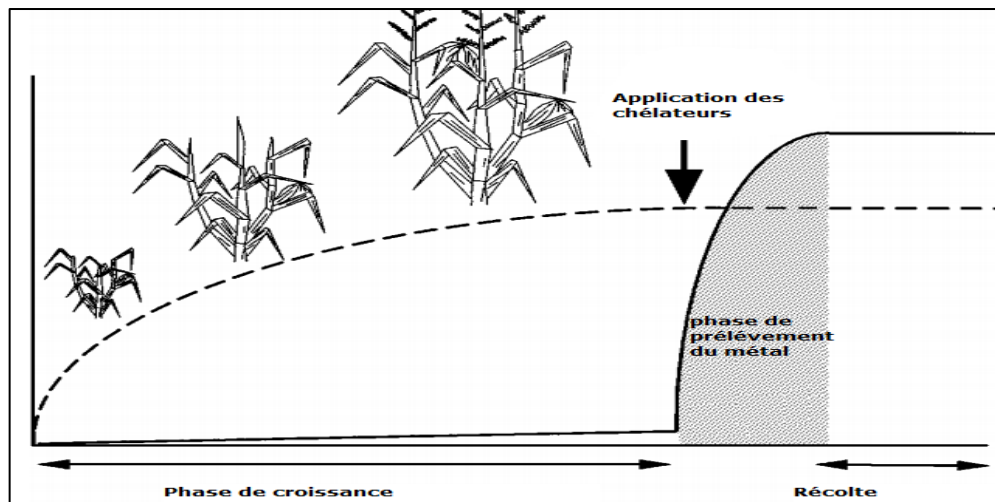


Fig.8: Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs. La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne (Salt *et al.*, 1998).

IV.4.2. Rhizofiltration

Elle est utilisée nettoyer les eaux contaminées et est une combinaison de la phytoextraction et de la phytostabilisation. L'absorption ou la précipitation des métaux toxiques par les racines jouent un rôle clé dans cette technique et en conséquence, d'importantes surfaces de racines sont requises (Alkorta *et al.*, 2004 ; Ghosh et Singh, 2005).

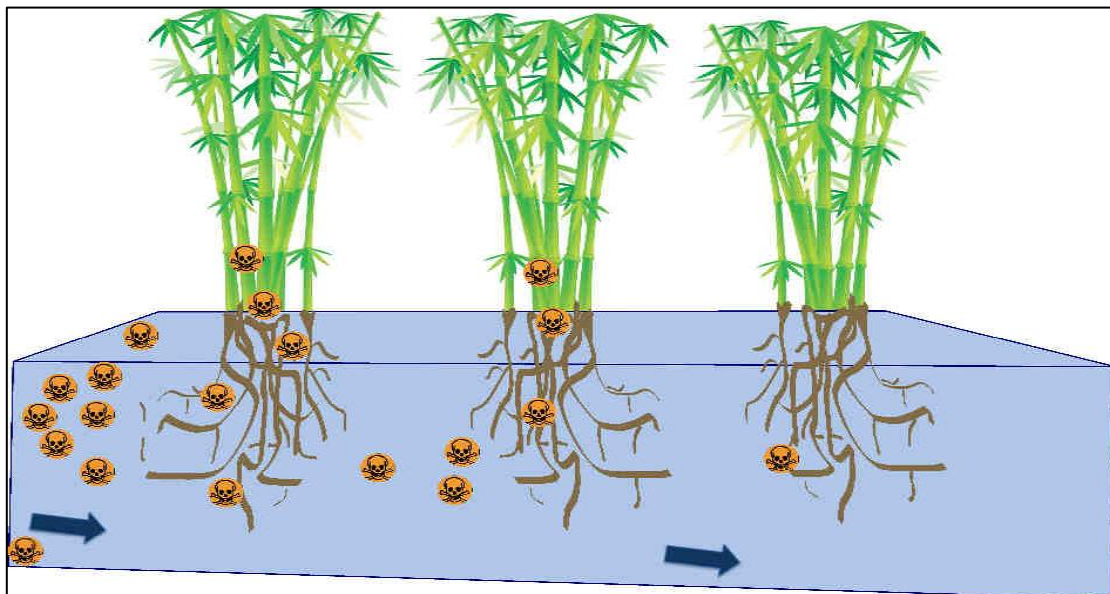


Fig.9: Système de rhizofiltration ; Les plantes peuvent être utilisées en conditions hydroponiques pour filtrer les eaux polluées (polluants représentés par la tête de mort) (Pilon-Smits, 2005).

IV.4.3. Phytostabilisation

La phytostabilisation utilise un couvert végétal pour empêcher la dispersion des contaminants dans les eaux souterraines et l'habitat humain, donc pour les rendre peu mobiles dans les écosystèmes (Krämer, 2005 ; Pilon-Smits, 2005). Certaines plantes immobilisent les contaminants par précipitation dans le sol par les exsudats racinaires ou par accumulation dans les racines (Do Nascimento et Xing, 2006 ; Zheng *et al.*, 2011).

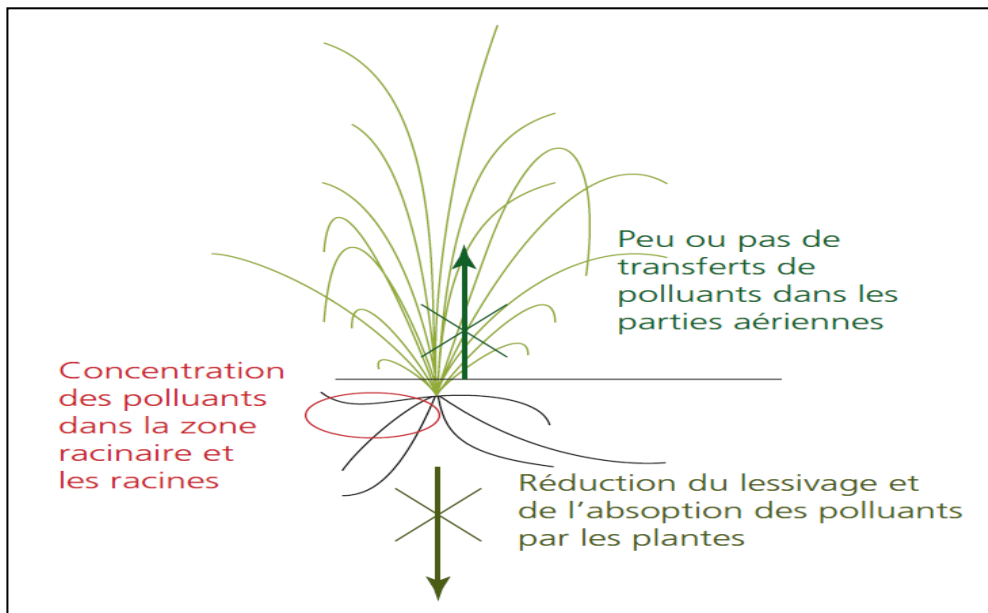


Fig.10 : Technique de la phytostabilisation (Bert *et al.*, 2013).

IV.4.4. La phytostimulation

Egalement appelée rhizo-biodégradation (Anderson *et al.*, 1993), elle exploite l'effet stimulant de la rhizosphère sur la dégradation microbienne des polluants (McCutcheon et Schnoor, 2004 ; Nwoko *et al.*, 2007). Cette démarche est notamment utilisée pour les composés organiques (PCB, HAP...) qui ne peuvent être prélevés par les plantes mais seront dégradés par les micro-organismes de la rhizosphère (Hutchinson *et al.*, 2003 ; Olson *et al.*, 2003).

IV.4.5. Phytovolatilisation

Permet la transformation en produits volatiles puis le relargage dans l'atmosphère d'éléments tels que le mercure ou le sélénium. Cette approche, encore au stade expérimental, fait actuellement l'objet de recherches très actives ; les résultats récents (Bizily *et al.*, 1999) dans ce domaine sont particulièrement encourageants.

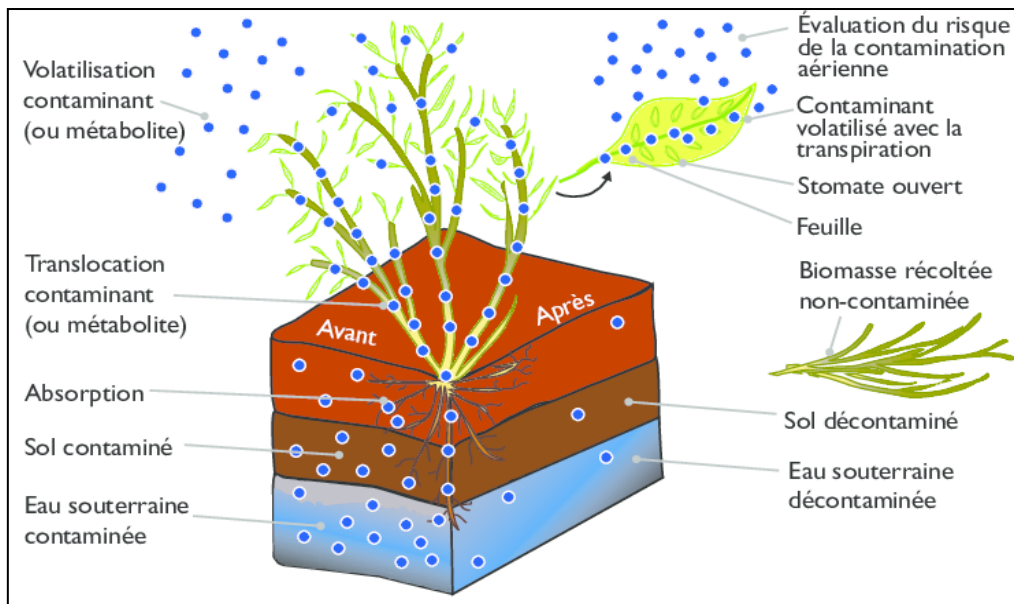


Fig.11 : Technique de volatilisation (Louise, 2016).

IV.4.6. Phytodégradation ou rhizodégradation

La phytodégradation (ou phytotransformation) repose sur l'effet rhizosphère qui stimule la dégradation des composés organique des sols. Cette décomposition est réalisée grâce à des enzymes variées, internes ou sécrétées par la plante comme (déhalogénases, oxygénases, nitroréductases...) (Chaudhry *et al*, 1998 ; Ann Peer *et al.*, 2005).

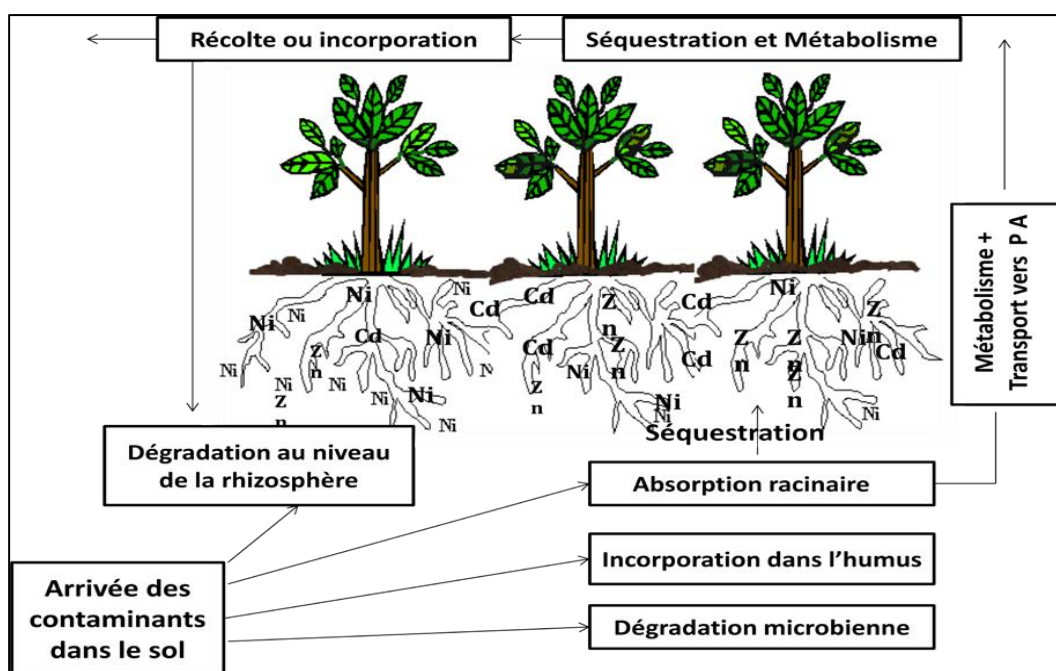


Fig.12: Processus de la phytodégradation des contaminants au niveau du sol (Chedly, 2006).

Tableau 09. Caractéristiques de différents procédés utilisés en phytoremédiation

Procédés de la phytoremédiation	<i>Rhizofiltration</i>	<i>Phytostabilisation</i>	<i>Phytoextraction</i>	<i>Phytovolatilisation</i>	<i>Phytodégradation</i>
Mécanismes	Accumulation, adsorption, précipitation	Complexation, adsorption, précipitation	Accumulation et hyperaccumulation	Extraction du contaminant et relâchement dans l'atmosphère	Dégradation rhizosphérique
Type de polluant	Organique/Inorganique	Organique/Inorganique	Surtout inorganique	Organique/Inorganique (As, Hg, Se)	Organique (solvants chlorés, herbicides)
Substrats traités	Milieu aqueux	Sols, sédiments, boues	Eaux, sols, sédiments, boues	Sols, sédiments, boues	Eaux, sols, sédiments, boues
Exemples de plantes utilisées	<i>H. annuus</i> , <i>B.juncea</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>Zea mays</i>	Plantes exclusives (<i>Agrostis tenuis</i>)	Hyperaccumulatrices ou accumulatrices 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 N'élimine pas le polluant du sol	Dépend du système racinaire Retraitement des déchets produits	Risque d'exposition atmosphérique non quantifié Utilisation d'OGM	Limite à des polluants facilement dégradables Dépend des rhizobactéries associées
Références	Duschenkov et al., 1995 Raskin et Ensley, 2000 Surarla et al., 2002	Cunningham et berti, 2000 Surarla et al., 2002	Salt et al ., 1995 Baker et brooks, 1989	Banuelos, 2000	Black, 1995

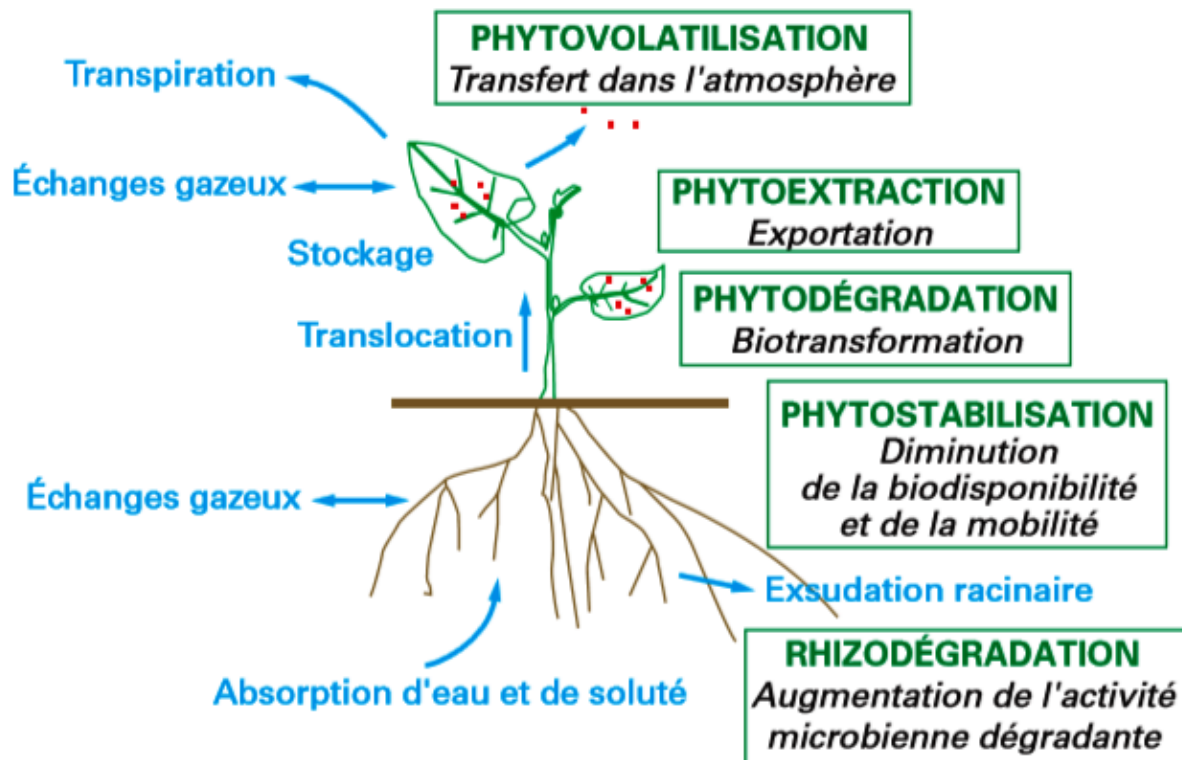


Fig.13: Principaux procédés de la phytoremédiation (Sterckeman *et al.*, 2011).

IV.5. Plantes transgéniques et la phytoremédiation

Comme outil de phytoremédiation, la plante idéale aurait une forte biomasse, combinée à une capacité de tolérance aux métaux importante, tout comme l'accumulation et/ou la dégradation des contaminants (Pilon-Smits et Pilon, 2002). Ainsi, plusieurs stratégies ont été pensées pour améliorer génétiquement les plantes utilisées en phytoremédiation, comme, par exemple, l'amélioration de la production de biomasse, l'altération de la spécificité des systèmes de prélèvements des métaux et l'augmentation de la production des substances chélatantes pour améliorer le taux de translocation et la séquestration des métaux (Krämer et Chardonnens, 2001 ; Pilon-Smits et Pilon, 2002).

Les plantes transgéniques surexprimant les enzymes impliquées dans la biosynthèse du glutathion (précurseur des phytochélatines) présentent une meilleure tolérance aux métaux (plomb et cadmium pour du tabac modifié) ainsi que des racines plus longues et une plus forte accumulation dans leurs feuilles (Gisbert *et al.*, 2003).

IV.6. Avantages et limites de la technique

IV.6.1. Avantages

La phytoremédiation présente de nombreux intérêts, d'ordre environnemental et économique. Elle permet d'abord de conserver le paysage agréable, contrairement à d'autres méthodes de dépollution qui le transforment. Ensuite, il est parfois possible de réutiliser les sols en agriculture après leur décontamination. Enfin, économiquement, elle est souvent plus avantageuse que les autres méthodes. Ceci est dû au fait que la phytoextraction entraîne la production de produits secondaires utilisables, qui sont donc des ressources de rentabilité. Ainsi, les métaux qui ont été extraits (via les cendres) peuvent être vendus et réutilisés, et l'incinération de la récolte permet la production d'énergie utilisable (électricité, chauffage) **(Philippe, 2005)**.

IV.6.2. Inconvénients

Comme toute nouvelle technologie, la phytoremédiation suscite des doutes et des inquiétudes. L'un des inconvénients majeurs concerne les limites biologiques des plantes. En effet, même les hyper-accumulatrices ne peuvent survivre sur des sols saturés en métal d'autant que certains métaux comme le chrome n'ont pas d'espèce hyper-accumulatrice. De plus, les zones d'absorption sont limitées par les capacités de croissance des racines et, par conséquent, aux horizons supérieurs du sol. Pour ces raisons, la phytoremédiation ne doit pas être considérée comme l'unique méthode de dépollution des sols contaminés. Chaque cas est particulier et nécessite une étude spécifique. Ainsi, la phytoremédiation s'inscrit plutôt bien à la fin d'un programme de dépollution construit en plusieurs étapes **(Lecomte, 1998)**.

L'autre problème essentiel, soulevé par la phytoextraction notamment, est le devenir des parties aériennes des hyper-accumulateurs. En effet, pour certaines personnes, on ne fait que déplacer le problème de l'accumulation des métaux dans la chaîne alimentaire. Selon les détracteurs de la méthode, des insectes et des mammifères herbivores s'exposeraient à ingérer de fortes teneurs en métaux en consommant les plantes hyperaccumulatrices, contaminant ainsi les premiers maillons de la chaîne. Toutefois, des études semblent montrer que les herbivores évitent de dévorer ces plantes trop chargées en métaux à leur goût. Les chercheurs pensent même que cette répulsion est une stratégie permettant aux plantes hyperaccumulatrices d'éviter la prédation **(Pollard et Baker, 1997)**.

Le radis
(Raphanus sativus L.)

V. Généralités sur l'espèce le radis (*Raphanus sativus* L.)

V.1. Présentation de l'espèce

V.1.1. Famille des Brassicacées

Parmi toutes les plantes utilisées par l'homme, les brassicacées constituent une importante famille de plantes dicotylédones représentées dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère nord (**Humbert, 1982**).

Avec ses quelques 340 genres et 3 700 espèces, les Brassicacées appelées autrefois « crucifères » appartiennent aux familles les plus importantes chez les Angiospermes (**Stevens, 2001 ; Hall et al., 2002**).

L'origine de la famille des Brassicacées se situe très probablement dans l'Ancien Monde (Asie/Europe) (**Schranz et Mitchell-Olds, 2006**) ; Aujourd'hui, la famille des Brassicacées a une répartition cosmopolite. Elle est très rare ou manque complètement dans les forêts tropicales primaires. Ses centres de répartition et de diversité se trouvent dans le Bassin méditerranéen, dans le sud-ouest asiatique et en Asie centrale (**Kozłowski, 2009**).

Les brassicaceae peuplent la presque totalité des habitats et des milieux de vie possibles: sables et rochers maritimes, bords de ruisseaux, talus calcaires, pelouses humides ou sèches, cultures et jardins, bords de chemins, cailloutis et prairies de montagne, Les moutardes, choux, radis et quelques plantes ornementales (aubrieties, iberis, girofrees) comptent parmi les crucifères. Le nombre et la disposition des sépales (04) et les pétales (04) sont tellement constants et remarquables que l'on a donné le nom de crucifères – ou porte-croix – à la famille, au lieu de l'appeler du nom d'un genre important (**wilson, 2011**).

Cette famille comprend des espèces de la flore sauvage spontanée et des espèces cultivées, et les principaux genres cultivés ce sont (**wilson, 2011**) :

1. *Arabidopsis* :(l'*Arabidopsis thaliana* ou Arabette des Dames),
2. *A Armoracia* :(genre du Raifort),
3. *Barbarea* :(le cresson de terre (*Barbarea verna*)),
4. *Brassica* :(les choux, la moutarde, les navets, le rutabaga),
5. *Eruca* :(la roquette),
6. *Erysimum* :(la giroflée),
7. *Nasturtium* :(le cresson de fontaine),
8. *Raphanus* :(le Radis).

V.1.2. Radis (*Raphanus sativus* L.)

Le radis (*Raphanus sativus*), comme le navet, est une plante potagère annuelle ou bisannuelle, bisannuelle à racines de la famille des Brassicaceae. Le radis est une crucifère diploïde ($2n = 18$ chromosomes) mais il existe aussi des variétés tétraploïdes (**Banga, 1976**).

Actuellement, la partie consommée de ce légume correspond à une tubérisation de l'hypocotyle charnu, souvent consommé cru, comme légume. Sa valeur nutritive n'est pas grande et il est surtout apprécié comme légume rafraîchissant puisqu'il contient des quantités considérables de vitamine C et de sels minéraux (**Benachour, 2008**).

La partie comestible, une racine pivot à chair blanche, est la partie gonflée, souterraine, de la tige, au-dessus de la racine. La peau du radis peut être de différentes couleurs, dont la plus courante est le rouge. Certaines variétés peuvent être à peau rose, blanche ou noire (**Banga, 1976**). En Algérie, le radis n'est pas très répandu puisque sa culture est pratiquée sur de petites superficies (**Benachour, 2008**).



Fig.14: Plante de *Raphanus sativus* L. (Neggaz, 2017).

V.1.3. Classification botanique du radis

La classification systématique du radis dans le règne végétal est représentée dans le tableau suivant **Tab.1** :

Tableau 10. Classification botanique de radis *Raphanus sativus L.* (Cronquist, 1981).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Brassicaceae
Genre	Raphanus
Nom Binominal	Raphanus sativus L

V.1.4. Origine du radis

L'origine du radis reste incertaine, il serait originaire de l'extrême Orient, en particulier la Chine et le Japon où l'on retrouve de très nombreuses variétés. D'autres botanistes soupçonnent que la plante serait originaire de la Méditerranée ou encore de l'Europe. La culture du radis est très ancienne et c'est à partir du XVII^e siècle que sa culture commence à être largement répandue. De nos jours, c'est une culture maraîchère répandue dans toutes les régions du monde (**Benachour, 2008**).

V.1.5. Description

Le radis (*Raphanus sativus L.*) est une racine, globuleuse, renflée-charnue, avec une écorce rose-blanche; Un tissu tendre ou ferme. Est directement surmontée de feuilles velues, plus ou moins grandes, pétiolées profondément lyrées, à lobes oblongs dentelés, dont le terminal est plus grand que les autres, Très- rudes. le radis développe une tige haute de 4 à 8 décimètre ramifiée, porteuse de fleurs blanches assez petites, pédonculées à 4 pétales dressés, donnant naissance à des fruits (siliques) type haricot vert court et gonflé oblongues- lancéolé, renflé à la base et non articulées, spongieux à l'intérieur, contenant des graines rouges aplaties logées chacune dans une fossette particulière, arrondies (**Moquin et Tandon, 1866**). (Figure 15).



Fig.15: Plante de radis (*Raphanus sativus* L.), aspect des feuilles, des tiges, des fleurs et des gousses (**Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France, 2011**).

V.2. Culture du radis

De nombreuses variétés de radis d'été germent en trois à sept jours, et arrivent à maturité en trois à quatre semaines ; Exigences climatiques et pédologiques :

- ❖ **Climat** : Il lui faut une certaine fraîcheur, surtout en été. Il redoute les fortes insulations. En été, lui réserver des emplacements ombragés .Par contre, au printemps et en automne, préférer les situations plus chaudes. En serre, éviter les températures supérieures à 15° (**Itcmi, 2010**).
- ❖ **Sols** : le radis (*Raphanus Sativus* L.) aime les terres meubles, riche en humus et en matière nutritives, Sablo argileux.
- ❖ **PH**: 5,5 à 6,8.
- ❖ **Salinité** : très sensible à la salinité su sol 2 à 3 mmhos/cm⁻¹ (**Itcmi, 2010**).

V.3. Variétés les plus cultivées en Algérie

Les variétés cultivées en Algérie sont : Cherry bell, National, Saxa, à forcer, Rond écarlate, Hâtif, Gaudry, Rond rose à bout blanc D'Orléans, Salvatore etc... Les cultures sont localisées sur le Littoral, sublittoral et hauts plateaux (ITCMI, 2010).

V.4. Récolte et conservation du radis

A la fin de l'expérimentation, (Après 2 mois de culture), les plantes sont amenées au laboratoire. Une fois débarrassées de leur substrat, les plantes sont rincées par trois immersions successives d'une minute dans de l'eau distillée, puis séchées sur du papier filtre, pour chaque plante, quatre échantillons sont constitués, la collecte des feuilles, des tiges, des racines et des tubercules s'effectue séparément. Elles sont ensuite transvasées dans du papier aluminium (Saint-Martin et Pourrut, 2005).

Les échantillons sont alors conservés à -80°C. ça ne modifie pas la quantité de protéines présentes dans les échantillons, ni le niveau d'activité de certaines enzymes, même après deux mois de conservation (Saint-Martin et Pourrut, 2005).

Les radis se conservent plusieurs semaines au réfrigérateur dans un sac de papier ou de plastique troué. Les radis Daikon perdent plus rapidement leur fraîcheur (Sanou *et al.*, 2009).

V.5. Composition du radis « *Raphanus sativus L.* »

V.5.1. Propriétés et valeur nutritive du radis

Les radis d'hiver sont réputé diurétiques, apéritives, antiseptiques et toniques. Ils faciliteraient la digestion et renfermeraient des produits anticancéreux, il est riche en minéraux, oligo-éléments, vitamine C et en soufre, qui lui donne sa saveur piquante, et pauvre en calories (Sanou *et al.*, 2009).

Les radis présentent aussi une haute densité en minéraux et oligo-élément pour 100 calories, ils fournissent 1620 mg de potassium, 133mg de calcium, 47mg de magnésium, 5.3mg de fer, cela leur confère d'intéressantes propriétés reminéralisantes. Les radis constituent également une bonne source de vitamine C puisqu'ils en apportent en moyenne 23 mg aux 100 g (Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France, 2011).

V.5.2. Principes actifs antioxydants

Du fait qu'il est très riche en antioxydants (les anthocyanines, Kaempferol et les Peroxydases...), des chercheurs ont notamment étudié l'effet d'un mélange d'antioxydants du radis chez l'animal pour découvrir qu'il apportait une protection contre l'oxydation des

lipides sanguins (un effet favorable à la santé cardiovasculaire), des lipides des cellules intestinales (un effet bénéfique pour la prévention du cancer du côlon) et d'autres maladies liées au vieillissement (**Gendreau, 2006**). Les radis renferment aussi des composés spécifiques, comme les indols, et les gluconisates, capables d'inhiber ou de freiner le développement de tumeurs cancéreuses.

V.6. Importance écologiques et environnementaux

V.6.1 Intérêts écologiques

Actuellement, avec les variétés ayant une capacité de dépollution le sol on les utilise comme des plantes phytoremédiatrices.

Le radis est une plante hyperaccumulatrice phytoremédiatrice utilisée pour absorber des concentrations élevées de métaux par leurs racines et les concentrer dans leurs feuilles.

Cette biomasse est récoltée pour l'incinérer et récupérer les métaux dans les cendres afin de les réutiliser en métallurgie (**Bouhadjera, 2005**). C'est un outil de réhabilitation des sols.

V.6.2 Intérêts écotoxicologiques

L'étude écotoxicologiques de cette plante pourrait constituer un outil intéressant pour estimer les risques de transfert potentiel des métaux lourds au sein de l'écosystème par leurs capacités de détoxification, d'immobilisation ou d'absorption des métaux lourds (**Ait hamadouche et al., 2007**).

En général, le Radis utilisé pour préparer et réaliser les essais de toxicité d'un sol (**E.P.S, 2005**).

Biodésinfection du sol (engrais vert) pratique à but principale « d'assainissement du sol » par l'utilisation des propriétés « allélopatiques » de plantes contre les bioagresseurs (virus, bactéries, champignon, nématodes...etc). S'appelle aussi La biofumigation ; est une méthode biologique visant à réduire le nombre de pathogènes, de ravageurs et de semences de mauvaises herbes dans le sol (**Michel et al., 2007**).

Elle est basée sur l'utilisation de plantes riches en glucosinolates, principalement des crucifères. Lors de la décomposition de ces plantes, les glucosinolates sont transformés en isothio- et thiocyanates, molécules volatiles et toxiques pour certains organismes du sol. (**Michel et al., 2007**).

V.7. Tolérance au stress métallique

Le radis (*Raphanus sativus* L.) est une culture légumière bien connue avec une croissance rapide, une grande biomasse, une sensibilité et une production énergétique. D'après ses caractéristiques, il peut être utilisé dans la dépollution des sols (**Simon, 1998**). Le radis est considéré comme un bon modèle pour étudier la phytoremédiation des sols contaminés par les métaux lourds tel que l'aluminium (**Cargnelutti et al., 2006**), le cadmium (**Anuradha et Rao, 2007 ; El-Beltagi et al., 2010**), le cuivre (**Sun et al., 2010**), le plomb (**Tecklic et al., 2008**). Il a été démontré que les plants de radis absorbaient certaines quantités de métaux dans leurs tissus pendant leur croissance (**Dočekalová et al., 2015**). Selon **Marchiol et al., (2004)** et **Benzarti et al., (2008)**, les plantes de radis accumulent les métaux (Pb, Ni, Cd) dans les pousses plus efficacement que le canola, la luzerne et la laitue. De plus, le facteur de translocation du radis était élevé pour le Zn et le Cd, intermédiaire pour le Ni et le Cu, et faible pour le Pb et le Cr. Le radis est plus tolérant au plomb par rapport au *Brassica juncea* (**Liu et al., 2000**) et *Allium cepa* (**Liu et al., 2009**). **Asadi Kapourchal et al., (2009)** signalent aussi qu'il n'y avait pas de toxicité pour les radis jusqu'à 1000 ppm de plomb dans le sol, et que la racine de radis accumule des quantités importantes de plomb par rapport aux feuilles. Par conséquent, ils ont considéré le radis comme plante accumulatrice de plomb.

*Synthèse sur la réponse
du radis au stress
métallique*

VI. Synthèse sur la réponse du radis au stress métallique de Plomb

Ce chapitre compare les résultats des différents paramètres biochimiques étudiés dans la partie (matériel et méthodes), au niveau des deux parties aérienne et racinaire de radis (*Raphanus sativus L.*) traitée par le plomb à différents concentrations croissantes durant une période d'expérimentation de deux mois.

Tableau 11. Doses du plomb appliquées

Espèce	Métal	Doses appliquées (ppm)		
<i>Raphanus sativus L.</i>	Plomb	250	500	1000
		200	500	1000

VI.1. Extraction et dosage des enzymes anti-oxydantes : catalase (CAT) et peroxydase (POD)

VI.1.1. Extraction des enzymes

200 mg de matière fraîche végétale est homogénéisée dans 5ml de tampon phosphate (KH_2PO_4 , Na_2HPO_4) 0.1 M, pH 7 en présence de polyvinylpyrrolidone (pvp) 10% (le broyage se fait à froid) et centrifugé à 4°C pendant 30 min à 14000 tr à l'aide d'une Ultra centrifugeuse (UNIVERSAL 320 R).Le surnageant est récupéré pour le dosage des enzymes (CAT et POD).

VI.1.1.1. Dosage de la catalase (CAT)

Le dosage de l'enzyme de la CAT est effectué selon la méthode de (Aebi, 1984) en suivant la diminution de l'absorbance du milieu réactionnel (1.9 ml de tampon phosphate 0.05 M, pH 7 + 0.1 ml d'extrait enzymatique) à 240 nm pendant 2 mn, après addition de 1 ml de H_2O_2 à 3%. La quantité de la CAT est calculée sur la base du coefficient d'extinction molaire $\Sigma = 40 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

VI.1. 1.2. Dosage de la peroxydase (POD)

Le dosage de l'enzyme POD est effectué selon la méthode de (Maciel *et al.*, 2007) en suivant l'augmentation de l'absorbance du milieu réactionnel (1 ml de tampon phosphate 50mM, pH 7 + 1.5 ml de gaïacol à 1% +0.1 ml d'extrait enzymatique) à 470 nm pendant 2 mn, après addition de 0.4 ml de H_2O_2 0.1M. La quantité de POD est calculée sur la base du coefficient d'extinction molaire :

$\Sigma = 11.3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Les analyses sont faites à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY7305).

VI.2. Effet du plomb sur les enzymes antioxydants

VI.2.1. Effet du Plomb sur le taux de la catalase (CAT)

Le taux de catalase enregistré dans les parties aériennes et racinaires de *Raphanus sativus L.* augmente progressivement avec les doses croissantes de Plomb. L'analyse statistique indique que les catalases s'accumulent de manière hautement significative avec une probabilité ($P < 0,05$) dans les parties aériennes et racinaires de *Raphanus sativus L.* traitée par le Plomb.

VI.2.2. Effet du Plomb sur le taux de la peroxydase (POD)

La teneur en peroxydase enregistrée chez *Raphanus sativus L.* stressé par le plomb, augmente dans les deux parties aériennes et racinaires de la plante. L'analyse statistique montre que l'effet de Pb sur la teneur en peroxydase de *Raphanus sativus L.* est hautement significatif ($P < 0,05$) pour les deux parties aériennes et racinaires de la plante.

Tableau 12. Effet du Pb sur les enzymes antioxydants de *Raphanus sativus L.*

Paramètre		(BITEUR Nadjjet, 2012)			(AOUMEUR Houria, 2012)		
		Plomb (ppm)			Plomb (ppm)		
		250	500	1000	200	500	1000
Catalase (CAT)	PA	↗	↗	↗	↗	↗	↗
	PR	↗	↗	↗	↗	↗	↗
Peroxydase(POD)	PA	↗	↗	↗	↗	↗	↗
	PR	↗	↗	↗	↗	↗	↗

VI.3. Discussion

Le mécanisme de tolérance des plantes à la suite d'un stress oxydatif par le plomb, peut être expliqué par une activation de différentes enzymes antioxydantes comme la catalase (CAT) et la peroxydase (POD), qui jouent un rôle très important dans la détoxification du plomb, en régulant les concentrations d'ERO (**Lin et al., 2000**).

La catalase est l'une des systèmes majeurs de dégradation enzymatique du peroxyde d'hydrogène (**Velikova et al., 2000**). Plusieurs travaux ont montré qu'il y a une relation proportionnelle entre l'augmentation du taux et d'activité de la catalase et l'élévation de la concentration des métaux lourds comme le plomb (Pb), le cuivre (Cu) et le zinc (Zn) dans les tissus végétaux (**Girotti, 1985; Mazhoudi et al., 1997**).

Les études de (**BITEUR Nadjet, 2012**) et (**AOUMEUR Houria, 2012**) montrent qu'il y a une augmentation du taux de CAT et POD au niveau des différentes parties de la plante du radis (*Raphanus sativus L.*) en présence de plomb à différentes concentration (250, 500 et 1000mg/l) par rapport aux témoins.

Cette augmentation est très significative au niveau des feuilles, tiges, tubercules et racines d'une façon proportionnelle avec l'augmentation de la concentration en Pb, provoqué par une surproduction d'ERO induite par le plomb, et par une signalisation du stress oxydatif transmise par les racines vers les feuilles (**Vitoria et al., 2001**) ce qui permet à la plante de mettre en place des systèmes de défenses (**Pourrut, 2008**).

Les peroxydases sont impliquées dans la lutte contre le stress oxydant dans les cellules (**Dos Santos et al., 2004**). Elles agissent en transformant le peroxyde d'hydrogène formé lors du stress oxydant en eau et oxygène (**Geebelen et al., 2002 ; Wu et al., 2003 ; Remon, 2006**).

Les résultats obtenus dans ce travail, montrent clairement que Le plomb induit une augmentation nette du taux de l'enzyme de la peroxydase au niveau des différentes parties du radis (*Raphanus sativus L.*).

Plusieurs travaux sont en accord avec leur résultats, ceux de (**Victoria et al., 2001 ; Garg et al., 2004 ; Gopal et al., 2007; sun et al., 2010 ; Biteur et al., 2011; Ait hamadouche et al., 2012 ; Dan wang et al., 2012**) chez le radis (*Raphanus sativus L.*) en cas de tolérance au cadmium, traité par le cuivre, le plomb et des éléments radioactifs (Cs) et (Sr) respectivement.

Conclusion

VII. Conclusion

Le plomb soulève une attention particulière, suite à la situation déplorable que vit l'environnement, il est considéré parmi les contaminants majeurs responsables de la pollution des sols. Les plantes, du fait de leur immobilité, sont particulièrement vulnérables à l'effet toxique de ce contaminant. Ces dernières années, le développement de techniques efficaces pour décontaminer les sites pollués est devenu indispensable. La phytoremédiation constitue une nouvelle technologie qui exploite les propriétés de certaines plantes à tolérer et accumuler des quantités considérables de métaux lourds.

Les capacités d'accumulation du Pb par le radis (*Raphanus sativus L.*) ont été étudiées par plusieurs travaux comparées avec celles des plantes de la même famille des *Brassicaceae*. Les résultats montrent que le radis présente des capacités d'accumulation dans les différentes parties, faisant de cette espèce végétale une candidate pour la mise au point de nouveaux systèmes de phytoremédiation. L'analyse des enzymes antioxydants indique que l'excès du plomb dans le milieu de culture du radis provoque une activation de l'enzyme de la catalase au niveau des feuilles et la peroxydase dans les tubercules.

Notre synthèse relative à l'étude de l'effet de Plomb sur les enzymes antioxydants du radis (*Raphanus sativus L.*), et d'après l'étude comparative des différents résultats obtenus antérieurement de la capacité de cette plante à accumuler et tolérer le Pb dans ces parties aériennes et racinaires, nous pouvons déduire que :

L'excès de plomb peut provoquer un stress oxydatif où l'activité de toutes les enzymes antioxydantes impliquées dans la défense contre les ROS va être modifiée. L'activation des (CAT et POD) va augmenter dans les racines et les feuilles du radis (*Raphanus sativus L.*) qui est une stratégie la plus utilisée par le radis (*Raphanus sativus L.*) à fin de s'adapter au stress quand les autres mécanismes de tolérance commencent à être dépassés. Ce qui prouve que le radis (*Raphanus sativus L.*) est une plante qui tolère, accumule le plomb et résiste aux contraintes de ce métal. De ce fait cette plante est peut être proposée comme un moyen épuratif (plante phytoremédiatrice) des sols contaminés par le plomb afin de limiter ou supprimer l'impact négatif des métaux lourds sur l'environnement et la santé humaine.

Références
bibliographiques

VIII. Références bibliographiques

A

Abreu CA, Abreu MF , Andrade JC, 1998. Distribution of lead in the soil profile accumulation and tolerance in *Typha latifolia* as affected by iron plaque on the root surface. *Aquat. Bot* **61**: 55-67.

Aebi H, 1984. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*_105: 121-126.

AFNOR, 1988. Prélèvement et dosage du plomb dans les aérosols. Paris- la Défense.

Ait Hamadouche N, Aoumeur H, Djedjai S, Slimani M, Aoues A, 2012. "Phytoremediation potential of *Raphanus sativus* L. for lead contaminated soil". *Acta Biologica Szegediensis* **56** :43-49.

Ait Hamadouche N, Aoumeur H, Kharoubi O, Kazouz H, Biteur N, Slimani M, Aoues AEK, 2007. Tolérance et accumulation de l'acétate de plomb par le radis (*Raphanus sativus* L) : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution.p 1-2. Laboratoire de Biochimie Appliquée.

Akpor OB, Ohiobor GO, Olaolu TD, 2014. Heavy metal pollutants in wastewater effluents: Sources, effects and remediation. *Advances in Bioscience and Bioengineering*. 2(4): 37-43.

Alkorta I, Hernandez-Allica J, Bercerril JM, Amezaga I, Albizu I, Garbisu C, 2004. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic. *Environ Sci Biotechnol*. 3: 71-90.

Alloway BJ, 1995. Heavy metals in soils. Blackie Academic & Professional, London, 2nd Edition, 368 p.

Alzieu C, 1999. Dragages et environnement marin. État des connaissances, Editions IFREMER, 223 p.

Anju M et Banerjee DK, 2012. Multivariate statistical analysis of heavy metals in soils of a PbZn mining area, India. *Environmental Monitoring and Assessment* 184: 4191-4206.

Ann-Peer W, Baxter I.R, Richards EL, Freeman JL, Murphy A.S, 2003. Phytoremediation and hyperaccumulator plants. *Int J Phytorem*.5 : 89-103.

Anuradha S et Rao SSR, 2007. The effect of brassinosteroids on Radish (*Raphanus sativus* L.) seedlings growing under cadmium stress. *Plant Soil Environ* **53**, 465-472.

AOUMEUR H, 2012. L'effet stressant du plomb sur la croissance du radis« *Raphanus sativus L.* ». Réponses physiologiques, biochimiques et efficacité potentielle de phytoremédiation. Université d'Oran es-senia.

Asada K, 1994. Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues. Causes of photo-oxidative stress and amelioration of defence systems in plants. Foyer CH et Mullineaux PM. Boca Raton, CRC Press. 77-104.

Asadi Kapourchal SO, Asadi Kapourchal SA, Pazira E, Homae M, 2009. Assessing radish (*Raphanus sativus L.*) potential for phytoremediation of lead-polluted soils resulting from air pollution. *Plant Soil Environ* **55(5)**, 202-206.

B

Babich H et Stotzky G, 1979. Abiotic factors affecting the toxicity of lead to fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 38 (3) : 506 – 513.

Babich H et Stotzky G, 1980. Environmental factors that influence the toxicity of heavy metals and gaseous pollutants to microorganisms, *Crit. Rev. Microbiol.* 8, 99145.

Baize D, 1997. Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). INRA Editions, Paris, 408 pp.

Baize D, 2002. Les éléments traces métalliques dans les sols. INRA éditions.

Baker A J M et Walker PL, 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In : Heavy metal tolerance in plants - Evolutionary aspects. Shaw, A. J. Editions. CRC Press, Boca Raton : 155 – 177.

Baker AJM et Brooks RR, 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements - a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* **1**: 81-126

Banuelos GS, 2000. Factors influencing field phytoremediation of selenium-laden soils. In phytoremediation of contaminated soils and water (eds Terry N. et Banuelos, G.) pp 41-59. Lewis publishers, Boca Raton, FL.

Barbalace JK, 2012. Environmental chemistry & hazardous material new, careers and resources.

Barceló J, 1989. Home-planta-medi ambient: una harmonia trencada (Model d'estudi planta metalls pesants). Discurs d'Ingrés Reial Acadèmia de Farmàcia de Barcelona. Servei Publicacions Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 69 p.

- Bargagli R, 1998.** Trace elements in terrestrial plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. Springer. 324 p.
- Baroni F, Boscagli A, Protano G, Riccobono F, 2000.** Antimony accumulation in *Achillea ageratum*, *Plantago lanceolata* and *Silene vulgaris* growing in an old Sb-mining area. *Environmental Pollution*, Vol. 109: 347-352.
- Becker W et Kumplainen J, 1991.** Contents of essential and toxic mineral Elements in Swedish Market-Baskets diets in 1987. *British Journal of Nutrition*, Vol. 66: 151-160.
- Behanzin GJ, Adjou ES, Yessoufou AG, Dahouenon AE, Sezan A, 2014.** Effet des sels de métaux lourds (chlorure de Cobalt et chlorure de Mercure) sur l'activité des hépatocytes, *Journal Applied Biosciences*, Vol 83, pp 7499-7505.
- Bellows A, 1999.** The praxis and production of food security: urban agriculture in Silesia, Thèse de doctorat. Department of Geography. Pologne, New Brunswick (N-J, É-U), Rutgers University, 61 p.
- Benabdeli K et Benmansour S, 1998.** Protection de l'environnement. Quelques bases fondamentales. Appliquées et réglementaires. Université Djïali Liabese de Sidi Bel-Abbes, Octobre 1998, 53-67.
- Benzarti S, Mohri S, Ono Y, (2008).** Plant response to heavy metal toxicity: comparative study between the hyperaccumulator *Thalaspica erulescens* (ecotype ganges) and non-accumulator plants: lettuce, radish, and alfalfa. *Environ Toxicol* **23**, 607-616.
- Bert V, (2013).** Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués ; Etat de l'art et guide de mise en oeuvre. EDP * Science éd. s.l.ADEME.
- Bisson M, Bureau J, Houeix N, Jolibois B, Gay G, Lefevre JP, Tack K, 2012.** Manganèse et ses dérivés - fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques.
- Biteur N, 2012.** Essais d'utilisation du radis (*Raphanus sativus*) dans la phytoremédiation (biodépollution) au niveau du sol contaminé par les métaux lourds (plomb) : Etude du stress oxydatif et quelques paramètres enzymatiques. Université d'oran.
- Biteur N, Aoues A, Kharoubi A, Slimani N, 2011.** "Oxidative stress induction by lead in leaves of Radish (*Raphanus sativus*) seedlings". *Not Sci Biol* **3** : 93-99.

Bizily SP, Rugh CL, Summers AO, Meagher RB, 1999. Phytoremediation of methylmercury pollution: *merB* expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials. Proceedings of the National Academy of Sciences 96, 6808-6813.

Black H, 1995. Absorbing possibilities: Phytoremediation. *Environmental Health Perspectives* **103**: 1106-1108.

Bonnet M, Camares O, Veisseire P, 2000. Effect of Zinc and influence of *Acremonium lolli* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activity of ryegrass. *Exp Bot.*, Vol. 51: 945-953.

Bouhadjera K, 2005. contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L. Thèse Doctorat. Université abou bekr belkaid Telemcen.

Bourelier PH et Berthelin J, 1998. Contamination des sols par les éléments en traces: les risques et leur gestion. Académie des sciences, Lavoisier Technique et Documentation, Paris, 440 p.

BRGM, 2004. "Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport final, BRGM/RP-52881-FR".

Briat JF et Lebrun M, 1999. "Plant responses to metal toxicity." *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* **322** : 43-54.

Brignon JM, Malherbe L, Soleille S, 2005. Les substances dangereuses prioritaires de la directive cadre sur l'eau – Fiches de données technicoéconomiques. Rapport final, INERIS DRC-MECO-2004-59520.

Brooks RR, 1998. Geobotany and hyperaccumulators. In: Brooks, R.R. (Ed.). *Plants that hyperaccumulate heavy metals*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 55-94.

Brunet J, Reppelin A, Varralult G, Terryn N et Zuily-Fodil Y, 2008. "Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.)". *C.R.Biologies* 331: 859-864.

C

Cargnelutti D, Tabaldi LA, Spanevello RM, Jucoski GO, Battisti V, Redin M, Linares CEB, Dressler VL, Flores EMM, Nicoloso FT, Morsh VM, Schetinger MRC, 2006. Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings. *Chemosphere* 65, 999-1006.

- CASAS S, 2005.** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. Thèse de doctorat en océanologie biologique, Environnement marin .Université du sud Toulon Var 363p.
- 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. Institut National Polytechnique de Toulouse.226P.
- Chaignon V, 2001.** Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse de doctorat. École doctorale : Sciences de l'Environnement ; Spécialité : Système Terre. Université d'Aix-Marseille. 246 p.
- Chaudhry TM, Hayes WJ, Khan AG, Khoo CS, 1998.** Phytoremediation focusing on accumulator plants that remediate metal-contaminated soils. *Aust J Ecotoxicol*. 4 : 37-51.
- Chedly A, 2006.** Bioremédiation / Phytoremédiation SN 232. Université de TUNIS, institut supérieur de l'éducation et de la formation continue. P 14-31.
- Cheng C, Motohashi R, Tsuchimoto S, Fukuta Y, Ohtsubo H, Ohtsubo E, 2003.** Polyphyletic origin of cultivated rice: based on the interspersed pattern of SINEs. *Mol Biol Evol* 20 :67-75.
- Christensen TH, 1984.** Cadmium soil sorption at low concentration : Effect of time, cadmium load, pH and calcium. *Water, Air, Soil, Pollution*, 21 : 105 – 114.
- 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.
- Cinnirella S, Hedgecock IM, Sprovieri F, 2014.** Heavy metals in the environment: sources, interactions and human health. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21(6).
- Clemens S, Palmgren MG, Kramer U, 2002.** *A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. Trends in Plant Science* 7: 309-315.
- Cobbett CS, 2000.** Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology* 123(3): 825- 832.
- Coïc Y et Coppenet M, 1989.** Les oligo-éléments en agriculture et en élevage. INRA Editions, Paris.

Collin VC, Eymery F, Genty B, Rey P, Havaux M, 2008. "Vitamin E is essential for the tolerance of *Arabidopsis thaliana* to metal-induced oxidative stress." Plant, Cell and Environment **31**: 244-257.

Cunningham CJ et Philip JC, 2000. Comparison of bioaugmentation and biostimulation in ex situ treatment of diesel contaminated soil. *Land Contamination and Reclamation* **8**: 261-269.

Cunningham SD, Shann JR, Crowley DE, Anderson TA, 1997. Phytoremediation of contaminated water and soil. In E. L. Kruger, T. A. Anderson, & J. R. Coats (Eds.), Phytoremediation of soil and water contaminants. ACS Symposium series 664 Washington, DC: American Chemical Society, 2-19.

Cuypers A, 2000. Phytotoxic concentrations of copper and zinc induce antioxidative defence in *Phaseolus vulgaris*, cv. *Limburgse vroege* : a comparative study. Limburgs universitair centrum, Diepenbeek, Belgium.

Cuypers A, Vangronsveld J, Clijsters H, 2002. Peroxidases in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris* copper and zinc phytotoxicity: a comparison. Journal of Plant Physiology **159**: 869-876.

D

Dalenberg JW et Van Driel W, 1990. "Contribution of atmospheric deposition to heavy metal concentrations in field crops." *Netherlands journal of agricultural science* **38**: 369-379.

Demmig-Adams B et Adams WW, 1996. "The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis." Trends in Plant Science **1**: 21-26.

Deneux-Mustin S, Roussel-Debet S, Mustin C, Henner P, Munier-Lamy C, Colle C, Berthelin J, Garnier-Laplace J, Leyval C, 2003. Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces : influence des micro-organismes du sol. *TEC & DOC, Editions Lavoisier*, Paris.

Diard P, 1996. Etude de la biosorption du plomb et du cuivre par des boues de stations d'épuration. Mise en œuvre d'un procédé de Biosorption à contre-courant .Thèse de Doctorat de l'INSA Lyon, France.

Do Nascimento, Xing CWA , Xing B, 2006. Phytoextraction : A review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Sci Agric (Piracicaba, Braz)*. **63** : 299-311.

Dočekalová H, Škarpaa P, Dočekal B, Talanta, 2015. Diffusive gradient in thin films technique for assessment of cadmium and copper bioaccessibility to radish (*Raphanus sativus*) *Talanta* **134**, 153-157.

Dos Santos WD, Ferrarese MDL, Finger A, Teixeira CAN, Ferrarese O, 2004. Lignification and related enzymes in Glycine max root growth-inhibition by ferulic acid. *Journal of Chemical Ecology* **30**: 1203-1212.

Dushenkov V, Kumar PBAN, Motto H, Raskin I, 1995. Rhizofiltration - The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environmental Science & Technology* **29**: 1239- 1245.

E

E.P.S, 2005. Méthode d'essai biologique : Essai de mesure de la levée et de la croissance de plantes terrestres exposées à des contaminants dans le sol, (Environnement Protection Séries) centre de technologie environnementale Canada. ISBN 0-662-79907-0.

El-Beltagi HS, Mohamed AA, Rashed MM, 2010. Response of antioxidative enzymes to cadmium stress in leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.) *Not Sci Bio* **2(4)**, 76-82
Environmental Toxicology and Chemistry **15**: 906-914.

Ernet WHO, 1996. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. *Applied Geochemistry* **11**: 163-167. evaluated by DTPA and Mehlich-3 solutions. *Bragantia* **57** : 185-882.

F

Förstner U, 1985. Chemical forms and reactivities of metal in sediments. In Chemical methods for assessing bio-available metals in sludges and soil. Leschber, R., Davis, R. D., L'Hérmite, P. *Elsevier Applied Science Publishers* : 1 – 30.

Foy CD, Chaney RL, White MC, 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, **29** : 511 – 566.

Foyer CH et Noctor G, 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling : A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*. **17** (7): 1866-1875.

Fryer MJ, 1992. "The antioxidant effects of thylakoid Vitamin E (alpha-tocopherol)." *Plant, Cell and Environment* **15**: 381-392.

G

- Gadd GM, 2010.** Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology* 156: 609-643.
- Gadd JM, 2000.** Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. Raskin. I and Ensley.B.D., John Wiley & Sons, New York, P 304.
- Garg G et Kataria SK, 2009.** Phytoremediation potential of *Raphanus sativus* (L.), *Brassica juncea* (L.) and *Triticum aestivum* (L.) for copper contaminated soil. a paper presented at 53rd Annual Conference of International Society of System Sciences, University of Queensland, Brisbane, Australia, July 12-17.4.
- Geebelen W, Vangronsveld J, Adriano DC, Van Poucke LC, Clijsters H, 2002.** "Effects of Pb-EDTA and EDTA on oxidative stress reactions and mineral uptake in *Phaseolus vulgaris*." *Physiologia Plantarum* **115**: 377-384.
- Gérard M, 2001.** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, Sénateur France.
- Ghosh M et Sing SP, 2005.** A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its by products. *App Eco Environ Res.* 3 : 1-18.
- Girotti AW, 1985.** Mechanism of lipid peroxidation. *J Free Radic Biol Med* 1:87-95.
- Gisbert C, Ros R, De Haro A, Walker DJ, Bernal MP, Serrano R, Navarro-Avino J, 2003.** A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 303: 440-445.
- Glater RAB et L Hernandez JR, 1972.** "Lead detection in living plant tissue using a new histochemical method." *J. Air Pollut. Control Assoc.* 22: 463-467.
- Glinski J et Lipiec J, 1990.** Soil physical conditions and plant roots. Boca Raton (FL), CRC Press.
- Godin PM, Feinberg MH, Ducauze CJ, 1985.** Modelling of soil contamination by airborne lead and cadmium around several emission sources. *Environmental Pollution Series B: Chemical and Physical* 10, 97-114.
- Gopal R et Rizvi AH, 2008.** "Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish." *Chemosphere* **70**: 1539-1544.
- Gupta M, Cuypers A, Vangronsveld J, Clijsters H, 1999.** Copper affects the enzymes of the ascorbate–glutathione cycle and its related metabolites in the roots of *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum* 106, 262–267.

Gyuris J, Golemis E, Chertkov H, Brent R, 1993. "Cdi1, a human G1 and S phase protein phosphatase that associates with Cdk2." *Cell* **75**: 791-803.

H

Hall JC, Sytsma KJ, Iltis HH, 2002. Phylogeny of Capparaceae and *Brassicaceae* based on chloroplast sequence data. *Am. J. Bot.* **89**: 1826-1842.

Hall JL, 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* **53**: 1-11.

Halliwell B et Whiteman M, 2004. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and *in cell* culture: How should you do it and what do the results mean? *British J Pharmacol.* **142**: 31-32.

Halliwell B, 2006. "Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life." *Plant Physiology* **141**: 312-322.

Hinsinger P, Schneider A, Dufey JE, 2005. "Le sol : ressource en nutriments et biodisponibilité." In « Sols et Environnement », Dunod (ed), Paris, 285-305.

Hirsch RE, Lewis BD, Spalding EP, Sussman MR, 1998. "A Role for the AKT1 Potassium Channel in Plant Nutrition." *Science* **280** : 918-921.

Hovman MF, Nielsen SP, Johansen I, 2009. Root uptake of lead by norway spruce grown on Pb spiked soils. *Environ Poll* **157**: 404-409.

Humbert H, 1982. Flore de Madagascar et des Comores : *Crucifères*, Muséum national d'histoire naturelle, 1982.

I

Institut technique des cultures Maraichères et Industrielles (ITCMI), 2010. Fiche techniques valorisée des cultures maraichères et industrielles. La culture de RADIS.

Issaka S, 2014. Phytoextraction du cadmium, du cuivre, du plomb et du zinc par cinq espèces végétales (*Vetiveria nigritana* (Benth.), *Oxytenanthera abyssinica* (A. Rich.) Munro, *Barleria repens* (Ness), *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf et *Lantana camara* Linn. Cultivées sur des sols ferrugineux tropicaux et vertiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du doctorat unique en développement rural. Université polytechnique de bobodioulasso (UPB), BURKINA FASO.

J

Jaworoxski Z, Kowacka L, Grotowski K, Kwiatkowski K, 1978. lead from nuclear exposition in the environment; Nucl.Technol, 37(2): 158-166.

Juste C, 1995. Les micropolluants métalliques dans les boues résiduaire des stations d'épuration urbaines. Convention ADEME-INRA, ADEME (ed). 209p.

K

Kabata-Pendias A et Pendias H, 1992. "Trace elements in soils and plants." CRC Press, Boca Raton, Florida, 2nd Edition, 209 p.

Kabata-Pendias A, Pendias H, 2001. Trace elements in soils and plants. 3rd CRC Press, Boca Raton, London, New-York, Washington D.C.

Kim YY et Lee Y, 2003. "Pb and Cd uptake in rice roots." *Physiologia Plantarum* 116: 368-372.

Kirpichtchikova T, 2009. Phytoremédiation par Jardins Filtrants d'un sol pollué par des métaux lourds : Approche de la phytoremédiation dans des casiers végétalisés par des plantes de milieux humides et étude des mécanismes de remobilisation/immobilisation du zinc et du cuivre. Thèse de doctorat. Univ Joseph Fourier - Grenoble I.

Kohler A, Blaudez D, Chalot M, Martin F, 2004. Cloning and expression of multiple metallothioneins from hybrid poplar. *New Phytologist* 164: 83-93.

Kozlowski G, 2009. Rave sauvage, *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham en Suisse. Université de Neuchâtel Suisse, Laboratoire de botanique évolutive.

Krämer U et Chardonnens AN, 2001. The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements *Applied Microbiology and Biotechnology* 55.

Krämer U, 2005. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. *Cur Opin Biotechno.* 2: 133-141.

Krieger-Liszkay A et Trebst A, 2006. "Tocopherol is the scavenger of singlet oxygen produced by the triplet states of chlorophyll in the PSII reaction centre." *Journal of Experimental Botany* 57: 1677-1684.

Kyung-Min L, Sujin K, Ji-Yoon N, Keunyoung K, Won-Hee J, Ok-Nam B, Seung-Min CH, Jin-Ho C, 2010. Low-level Mercury Can Enhance Procoagulant Activity of Erythrocytes: A New Contributing Factor for Mercury-related Thrombotic Disease. *Environmental Health Perspectives*. National Institutes of Health U.S. Department of Health

and Human Services, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea, 32 p.

L

Lamb DT, Ming H, Megharaj M, Naidu R, 2010. Phytoextraction and accumulation of lead in Australian native vegetation Arch Environ Contamin Toxicol. 58 (3) : 613-621.

Lamy I, 2002. Réactivité des matières organiques des sols vis-à-vis des métaux. *Journées nationales de l'étude des sols*. 22-24 octobre, Orléans : 22 – 29.

Lane SD et Martin ES, 1977. "A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*" New Phytologist **79** : 281-286.

Lebohec J et Giraud M, 1999. Désinfecter les sols autrement. Juin 1999, ISBN, 2-87911-134-X., 59 p.

Lecomte P, 1998. Les sites pollués : traitement des sols et des eaux souterraines. 2^e édition. Paris : Lavoisier Techniques et documentation, 204p.

Li LY et Li RS, 2000. The role of clay minerals and the effects of H⁺ ions on removal of heavy metals (Pb²⁺) from contaminated soils. *Canadian Journal of Geotechnique*, 37 (2) : 296 – 307.

Liu D, Jiang W, Liu C, Xin C et Hou W, 2000. Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian mustard (*Brassica juncea L.*). *Bioresour Technol*. 71 (3): 273-277.

Liu D, Jiang W, Liu, C, Xin C, Hou W, 2000. Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian mustard (*Brassica juncea L.*) *Bioresour Technol*. **71(3)**, 273-277.

Liu D, Zou J, Meng Q, Jiang W, 2009. Uptake and accumulation and oxidative stress in garlic (*Allium sativum L.*) under lead phytotoxicity. *Ecotoxicol* **18**, 134-143.

Loué A, 1993. Oligo-éléments en agriculture. Ed. Nathan (ed), 45-177.

Louise et Hénaul-Ethier, 2016. ResearchGate phytoremédiation, Société québécoise de phytotechnologie -info@phytotechno.com2030, Boul. Pie-IX, bureau 403, Montréal(Québec).

M

Ma M, Lau PS, Jia YT, Tsang WK, Lam SKS, Tam NFY, Wong YS, 2003. The isolation and characterization of Type 1 metallothionein (MT) cDNA from a heavy-metal-tolerant

plant, *Festuca rubra* cv. Merlin. *Plant Science* **164**: 51-60. maladies du sol. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. Vol. 39 (2): 145-150, 2007.

Maciel HPF, Gouvêa CMCP, Toyama M, Smolka M, Marangoni S, Pastore GM, 2007. Extraction, purification and biochemical characterization of a peroxidase from *Copaifera longsdorffii* leaves. *Quin.Novo* 30: 1067-1071.

Marchiol I, Assolari S, Sacco P, Zerbi G, 2004. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environ Pollut* **132**, 21-27.

Mason AZ et Jenkins KD, 1995. Metal detoxication in aquatic organisms. In Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. Eds Tessier A, Turner DR, Vol 3. Wiley & Sons, Chichester, pp. 469-608.

Mattina MJL, Lannucci-Berger W, Musante C, White JC, 2003. Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soils. *Environmental Pollution* **124**: 375-378.

May M, Vernoux T, Leaver C, Van Montagu M, Inze D, 1998. Glutathione homeostasis in plants : Implications for environmental sensing and plant development. *J Experm Bot.* 49 (321): 649-667.

Mazhoudi S, Chaoui A, Ghorbal MH, Ferjani EE, 1997. Response of anti-oxidant enzymes to excess copper in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Plant Sci J* **127** : 129-137.

Meers E et Tack F, 2004. The potential of foliar treatments for enhanced phytoextraction of heavy metals contaminated soil. *Remed J.* 14 : 111-123.

Michel V, Ahmed H, Dutheil A, 2007. La biofumigation, une méthode de lutte contre les maladies du sol. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. Vol. 39 (2): 145-150.

Mika A, Minibayeva F, Beckett R, Lüthje S, 2004. Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochem Rev.* 3 (1): 173-193.

Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA, 1996. "Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls." *FEBS Letters* **384**: 240-242.

Miquel G, 2001. Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. N° 261 SENAT. Office parlementaire des choix scientifiques e technologiques, 365 p.

Morlot M, 1996. "AGHTM Aspects analytiques du plomb dans l'environnement", Ed lavoisier TEC&DOC.

Mozzo M, Dall'Osto L, Hienerwadel R, Bassi R, Croce R, 2008. "Photoprotection in the Antenna Complexes of Photosystem II: Role of individual xanthophylls in chlorophyll triplet quenching " Journal of Biological Chemistry **283**: 6184-6192.

N

Navas P, Villalba J, Córdoba F, 1994. Ascorbate function at the plasma membrane. Reviews on Biomembranes. Biochem Biophys Acta. 1197 (1): 1-13.

Nieboer E et Richardson DHS, 1980. The replacement of the nondescript term « heavy metal » by a biologically & chemically significant classification of metal ions. Environ. Pollut. IB: 3-26.

Noctor G, Arisi A, Jouanin L, Kunert K, Rennenberg H, Foyer C, 1998. "Review article. Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants." Journal of Experimental Botany **49**: 623-647.

Nriagu JO, 1978. The biogeochemistry of lead in the environment. Ed JO Nriagu, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.

O

Otte ML, Rozema J, Koster L, Haarsma MS, Broekman RA, 1987. "The iron-plaque on the roots of saltmarsh plants: A barrier to heavy metal uptake? International Conference Heavy Metals in the Environment", New Orleans (USA). CEP Consultants, Edinburgh.

P

Pal R et Rai JPN, 2010. Phytochelatins: Peptides Involved in Heavy Metal Detoxification. Appl Biochem Biotechnol **160**: 943-963.

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.

Peer WA, Baxter IR, Richards EL, Freeman JL, Murphy AS, 2005. Phytoremediation and hyperaccumulator plants. Topics in Current Genetics **14**: 299-340.

Pichard A, 2002. Plomb et ses dérivés. Institut national de l'environnement. 90p.

Piechalak A, Tomaszewska B, Baralkiewicz D, Malecka A, 2002. Accumulation and detoxification of lead ions in legumes. *Phytochemistry*, Vol. 60: 153-162.

Pilon-Smits E et Pilon M, 2002. Phytoremediation of metals using transgenic plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21: 439-456.

Pilon-Smits E, 2005. Phytoextraction. *Ann Rev Plants Bio.* 56 : 15-39.

Pitzschke A, Forzani C, Hirt H, 2006. Reactive oxygen species signaling in plants. *Antioxidant Redox Signal.* 8 (9-10): 1757-1764.

Pollard AJ et Baker AJM, 1997. Deterrence of herbivory by zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens* (*Brassicaceae*). *New Phytol.* 4: 655-658.

Pomponi M, Censi V, Di Girolamo V, De Paolis A, di Toppi LS, Aromolo R, Costantino P, Cardarelli M, 2006. Overexpression of Arabidopsis phytochelatin synthase in tobacco plants enhances Cd(2+) tolerance and accumulation but not translocation to the shoot. *Planta* 223(2): 180-190.

Pourrut B, Perchet G, Silvestre J, Cecchi M, Guiresse M et Pinelli E, 2008. Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots. *J Plant Physio.* 165 (6): 571-579.

Pourrut B, Perchet G, Silvestre J, Cecchi M, Guiresse M, Pinelli E, 2008. Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots. *J Plant Physio.* 165 (6): 571-579.

Prasad MNV et Hagemeyer F, 1999. Heavy Metal Stress in Plants: From Molecules to Ecosystems. Berlin, Springer-Verlag.

Q

Quartacci MF, Argilla A, Baker AJM, Navari-Izzo F, 2006. Phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by indian mustard. *Chem.* 63: 918- 925.

R

Ranieri A, Castagna A, Scebba F, Careri M, Zagnoni I, Predieri G, Pagliari M, di Toppi LS, 2005. Oxidative stress and phytochelatin characterisation in bread wheat exposed to cadmium excess. *Plant Physiol Biochem* 43(1): 45-54.

Raskin I et Ensley Bd, 2000. Phytoremediation of toxic metals using to clesn up the environment. Wiley New-york.

Rausser WE, 1999. Structure and function of metal chelators produced by plants: the case for organic acids, amino acids, phytin, and metallothioneins. *Cell Biochem Biophys* 31(1): 19-48.

Reilley KA, Banks MK, Schwab AP, 1996. Organic chemicals in the environment: dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Journal of Environmental Quality*, 25, 212-219.

Remon E, 2006. Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Thèse de doctorat. Univ JEAN MONNET.

Robert M et Chenu C, 1992. Interactions between soil minerals and microorganisms. *Soil Biochemistry*, 7 : 307 – 404.

Robert M et Juste C, 1999. Dynamiques des éléments traces de l'écosystème sol. Dans: Association ECRIN éd., Spéciation des Métaux dans le Sol, Les cahiers des clubs CRIN, Club CRIN Environnement et Ministère de l'Environnement, Paris. 15-37.

Robert M et Juste C, 1999. Enjeux environnementaux et industriels-Dynamique des éléments traces dans l'écosystème Sol. In: « Spéciation des métaux dans le sol ». Les Cahiers du Club Crin, Paris, 15-37.

Rondeau H, 1972. S.O.S. Biosphère. Pollution. Ed. Hurtubise. HMH. Montréal 126. Canada, 155 p.

Roosens NH, Bernard C, Leplae R, Verbruggen N, 2004. Evidence for copper homeostasis function metallothionein of metallothionein (MT3) in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *FEBS Letters* 577: 9-16.

S

Saifullah E, Meers Qadir M, Caritat P, Tack FMG, Du Laing G, Zia MH, 2009. EDTA-assisted Pb phytoextraction. *Chemosphere*. 74 : 1279-1291.

Salt DE, Blaylock M, Kumar NPBA, Dushenkov V, Ensley BD, Chet I, Raskin I, 1995. Phytoremediation - A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio-Technology* 13: 468-474.

Salt DE, Prince RC, Pickering IJ, Raskin I, 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian Mustard. *Plant Physiology* 109: 1427-1433.

Salt DE, Smith RD, Raskin I, 1998. Phytoremediation. *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 643–68.

- Sanders JR Mc, Guth S P, Adams TM, 1986.** Zinc, copper and nickel concentrations in ray-grass grown on sewage sludge-contaminated soils of different pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37 : 961 – 968.
- Sanders JR, 1983.** The effect of pH on the total and free ionic concentrations of manganese, zinc and cobalt in soil solutions. *Journal of Soil Science*, 34 : 315 – 323.
- Schat H, Llugany M, Vooijs R, Hartley-Whitaker J, Bleeker PM, 2002.** The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes. *Journal of Experimental Botany* 53(379): 2381-2392.
- Schneegurt MA, Jain JC, Menicucci Fr JA, Brown SA, Kemner KM, Garofalo DF, 2001.** Biomass by products for the remediation of waste waters contaminated with toxic metals. *Environ Sci Technol.*, Vol. 35: 37-86.
- Schranz EM, Lysak MA, Mitchell-Olds T, 2006.** The ABC's of comparative genomics in the *Brassicaceae*: building blocks of crucifer genomes. *Trends Plant Sci* 11: 535–542.
- Sterckeman T, Ouvrard S, Leglize P, 2011.** Phytoremédiation des sols. Techniques de l'ingénieur. Environnement - Sécurité | Métier : responsable environnement Réf : Bio5300v1.
- Seregin IV et Ivanov VB, 2001.** "Physiological Aspects of Cadmium and Lead Toxic Effects on Higher Plants." *Russian Journal of Plant Physiology* 48 : 523-544.
- Seregin IV, Shpigun LK, Ivanov VB, 2004.** "Distribution and Toxic Effects of Cadmium and Lead on Maize Roots." *Russian Journal of Plant Physiology* 51 : 525-533.
- Shahid M, Pinelli E, Pourrut B, Silvestre J, Dumat C, 2011.** Lead-induced genotoxicity to *vicia faba L.* roots in relation with metal cell uptake and initial speciation *Ecotoxicol Environ Safety*. 74(1) : 78-84.
- Shallari S, 1997.** Disponibilité du nickel du sol pour l'hyperaccumulateur *Alyssum murale*. Thèse de Doctorat de J'INPL, Vandoeuvre, 105 p.
- Sharma P et Dubey RS, 2005.** "Lead toxicity in plants." *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 35-52.
- Simon I, 1998.** Cd accumulation and distribution in radish plant. *J Plant Nutr* 21, 341-352.
- Smits EAHP et Freeman JL, 2006.** Environnemental cleanup using plants biotechnological advances and ecological consideration. *Front Eco Environ*. 4 : 203-210.
- Sposito G, Prost R, Gaultier JP, 1983.** Infrared spectroscopic study of adsorbed water on reduced-charge Na/Li montmorillonites. *Clays and clay minerals* 31: 9-16.

Sterckeman T, Douay F, Proix N et Fourrier H, 2000. Vertical distribution of Cd, Pb, and Zn in soils near smelters in the North of France. *Environmental Pollution* **107** : 377-389.

Stevens P.F., 2001. onwards. Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012 (www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/).

Sun B, Kan SH, Zhang, YZ, Deng SH, Wu J, Yuan H, Qi H, Yang G, Li L, Zhang, XH, Xiao H, Wang YJ, Peng H, Li YW, 2010. Certain antioxidant enzymes and lipid peroxidation of radish (*Raphanus sativus* L.) as early warning biomarkers of soil copper exposure. *J Hazard Mater* **183**, 833-838.

Sun BY, Kan SH, Zhang YZ, Deng SH, Wu J, Yuan H, Qi H, Yang G, Li L, Zhang XH, Xiao H, Wang YJ, Peng H, Li YW, 2010. certain antioxidant enzymes and lipid peroxidation of radish (*Raphanus sativus* L.) as early warning biomarkers of soil copper exposure. *Journal of Hazardous Materials* **183**: 833-838.

Surarla S, Medina VF Mc, Mutcheon SC, 2002. Phytoremediation : an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering*, 18, 647-658.

Swaine DJ, 1986. Lead. In DC Adriano (éd), Trace elements in the terrestrial environment. *Springer Verlag*, New York.

T

Tanton TW et Crowdy SH, 1971. "The distribution of lead chelate in the transpiration stream of higher plants." *Pesticide Science* **2**: 211-213.

Tekli T, Hancock JT, Engler M, Paradikovi N, Cesar V, Lepeduš H, Štolfa I, Bešlo D, 2008. Antioxidative responses in radish (*Raphanus sativus* L.) Plants stressed by copper and lead in nutrient solution and soil. *Acta Bio Cracoviensia Ser Bot.* 50 : 79-86.

Telfer A, Dhimi S, Bishop S, Phillips D, Barber J, 1994. "beta-Carotene quenches singlet oxygen formed by isolated photosystem II reaction centers." *Biochemistry* **33**: 14469- 74.

Tung G et Temple PJ, 1996. "Histochemical detection of lead in plant tissues." *Environmental Toxicology and Chemistry* 15: 906-914.

V

Veeresh H, Tripathy S, Chaudhuri D, Hart BR, 2003. Sorption and distribution of adsorbed metals in three soils of India. *Applied Geochemistry* **18** (11): 1723-1731.

Velikova V, Yordanov I, Edreva A, 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci* 151:59.

Victoria P, Lea J, Azevedo A, 2001. Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochemistry* **57**: 701-710.

W

Wang C, Wang X, Tian Y, Yu H, Gu X, Du W et Zhou H, 2007. "Oxidative stress, defence response and early biomarkers for lead-contaminated soil in *Vicia faba* seedlings." *Environmental Toxicology and Chemistry* **1**.

Wang QR, Cui YS, Liu XM, Dong YT, Christie P, 2003. Soil contamination and plant uptake of heavy metals at polluted sites in China. *J. Environ. Sci. Health Part A-Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng.* **38**, 823-838.

Weiss D, Shotyck W, Kempf O, 1999. *Archives of Atmospheric Lead Pollution*.

Wierzbicka M, 1987. "Lead translocation and localization in *Allium cepa* roots." *Canadian Journal of Botany* **65**: 1851-1860.

Wilson A, 2011. Recherche d'isothiocyanates à intérêts fonctionnel et technologique chez *les Brassicacées*. Thèses de doctorat, Université de Strasbourg.

Wu Z, Gu Z, Wang X, Evans L, Guo H, 2003. "Effects of organic acids on adsorption of lead onto montmorillonite, goethite and humic acid." *Environmental Pollution* **121**: 469-475.

Wuana RA et Okieimen FE, 2011. *Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources*.

X

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

Y

Ye ZH, Baker A J M, Wong MH, Willis A J, 1998. Zinc, lead and cadmium accumulation and tolerance in *Typha latifolia* as affected by iron plaque on the root surface. *Aquat. Bot*

Z

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

Zhang WH, Cai Y, Tu C, Ma LQ, 2002. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *The Science of Total Environment*, Vol. **300**: 167-177.

Zhang YW, Tam NFY, Wong YS, 2004. Cloning and characterization of type 2 metallothionein-like gene from a wetland plant, *Typha latifolia*. *Plant Science* **167**: 869-877.

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

Zhu YZ, Pilon-Smits EAH, Tarun AS, Weber SU, Jouanin L, Terry N, 1999. Cadmium tolerance and accumulation in Indian mustard is enhanced by overexpressing g-glutamylcysteine synthetase. Plant Physiology, Vol. 121: 1169-1177.