



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université de Mostaganem

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

Laboratoire de Biodiversité et de Conservation des Eaux et des
Sols

MEMOIRE

Présenté par

HAMAD Hanane

En vue de l'obtention du

Diplôme de master

En Phytotechnologies Appliquées aux Sols Pollués

Thème

Phytoextraction du cuivre par le radis (*Raphanus sativus*)

Soutenu le /.... /....., devant le jury composé de :

Chibani abdelwahab	Pr	Universitaire de Mostaganem	Président
Reguieg Yssaad Houcine Abdelhakim	Pr	Université de Mostaganem	Encadreur
Mme Belarbi Amaria	MCB	Universitaire de Mostaganem	Examineur
Ghamnia Youcef	MAB	Universitaire de Mostaganem	Examineur

Année universitaire: 2016-2017

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur

Mr Reguieg Yssaad Houcine Abdelhakim

Pour ses appréciations, ses précieux conseils et surtout pour nous avoir fait confiance et nous avoir accepté dans son laboratoire.

Mes sincères gratitudees à Mr Ghamnia Youcef pour son attention de tout instant sur notre travail, pour ses conseils avisés, son écoute qui ont été prépondérants pour la bonne réussite de ce travail et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail et de l'enrichir par leur proposition

A Pr Chibani abdelwahab D'avoir accepté de présider le jury

A Mme Belarbi Amaria d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail

Nous tenon également à exprimer notre gratitude envers tous les enseignements surtout Mlle Benhmimed Atafia et le personnel administratif de l'université qui ont contribué à notre formation et à l'élaboration de se présent travail

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Résumé

Le cuivre est un oligoélément indispensable pour le développement des végétaux grâce à son rôle important dans la physiologie des plantes. Mais il est aussi un métal lourd toxique à forte concentration. Certaines espèces poussant sur des sites présentant de fortes concentrations en cuivre ont développé des mécanismes de protection qui leur permettent de tolérer cet excès en métal. L'objectif de ce travail est d'étudier les capacités du radis (*Raphanus sativus*) » de dépolluer les sols contaminés par le cuivre. L'étude porte sur l'exposition des plantes du radis (*Raphanus sativus*) au cuivre à des différentes doses (0, 400, 800, 1000 ppm) pendant deux semaines juste après une semaine de germination et cinq semaines de culture. L'analyse physiologique de l'exposition au cuivre a montré une inhibition de l'élongation foliaire et racinaire, les masses de matière fraîche et sèche de différents organes des plantes du radis par rapport aux témoins et une diminution de la teneur en pigments chlorophylliens foliaires (chlorophylle a, b et totale) par rapport aux témoins. L'analyse hydrique de l'exposition au cuivre a montré une augmentation de la teneur relative en eau (RWC) des plantes du radis par rapport aux témoins. Alors que la perte d'eau par transpiration (RWL) des plantes du radis diminue par rapport aux témoins. L'analyse biochimique a montré une diminution des teneurs en protéines totales des plantes du radis exposées au cuivre à différentes concentrations, par rapport aux témoins. Ces paramètres physiologiques, hydriques et biochimiques modifiés suggèrent que le cuivre induit un stress chez le radis (*Raphanus sativus*) au cours de sa croissance par rapport aux témoins, mais le radis possède des mécanismes de protection qui lui permettra de tolérer cet excès en cuivre.

Mots clés : Cuivre, Radis, phytoremédiation, paramètres morpho-physiologiques, paramètres biochimiques, paramètres hydriques.

تلخيص

النحاس عنصر اساسي في نمو النباتات بسبب دوره الهام في فيزيولوجيا النباتات ولكنه يعتبر أيضا من المعادن الثقيلة . السامة بتركيز عالية. بعض الانواع التي تنمو في مناطق بها تراكيز عالية من النحاس لها اليات حماية تسمح لها على تحمل هذا الفائض.الهدف من هذا العمل هو دراسة قدرة نبات "الفجل (*Raphanus sativus*) في علاج التربة الملوثة بالمعادن الثقيلة النحاس. تخص الدراسة في تعريض نبات "الفجل (*Raphanus sativus*) الى تراكيز مختلفة من النحاس (0, 400, 800, 1000 جزء في المليون) لمدة اسبوعين وهذا بعد اسبوع من الانبات وخمسة اسابيع من الزرع. وقد أظهرت التحاليل الفيزيولوجية للنباتات المعرضة للنحاس انخفاض منطقة الأوراق والجذور, وكتلة المادة الحية والجافة للنباتات ونقص في كمية اليخضور (اليخضور أ، ب، الكلبي) مقارنة مع الشواهد. كما أظهرت تحاليل المياه إلى زيادة في المحتوى النسبي للمياه (RWC) لنباتات الفجل المعرضة للنحاس مقارنة مع الشواهد,في حين أن فقدان الماء عن طريق النتح (RWL) لنباتات الفجل ينخفض مقارنة مع الشواهد. وقد اظهرت التحاليل البيوكيميائية انخفاض في محتوى البروتين الكلبي لنباتات الفجل المعرضة للنحاس بتركيزات مختلفة مقارنة مع الشاهد. وتشير هذه التعليمات الفيزيولوجية, المياه والبيوكيميائية بأن النحاس انجم اجهاد لدى نبات الفجل (*Raphanus sativus*) أثناء نموه مقارنة مع الشواهد, ولكن الفجل لديه آليات حماية التي من شأنها أن تسمح له بتحمل هذا الفائض من النحاس.

الكلمات الأساسية: النحاس، الفجل، phyto remediation ، اعدادات morphophysiologicals ، القياسات

إعدادات بيوكيميائية، إعدادات معدنية.

Abstract

Copper is an essential trace element for the development of plants due to its importance role in the physiology of plants. But it is also a toxic heavy metal with high concentration. Some species grown on sites with high copper concentrations have developed protective mechanisms that will allow them to tolerate this excess metal. The aim of this work is to study the abilities of radish (*Raphanus sativus*) to decontaminate soils contaminated by copper. The study focuses on the exposure of radish plants (*Raphanus sayivus*) to copper at different doses (0, 400, 800, 1000 ppm) for two weeks just after one week of germination and five weeks of culture. Physiological analysis of exposure to copper showed inhibition of foliar and root elongation masses of fresh and dry matter of different organs of radish plants compared to controls and a decrease in foliar chlorophyll pigment content (chlorophyll a,b and total) relative to the controls. Water analysis of exposure to copper showed an increase in the relative water content (RWC) of radish plants compared to controls. While transpiration water loss (RWL) of radish plants decreases compared to controls. Biochemical analysis showed a rise in tatol protein levels of radish plants exposed to copper et different concentrations, compared to controls. Thes modified physiological, hydric and biochemical parameters suggest that copper induces stress in radish (*Raphanus sayivus*) during it growthcompared to controls, but radish has protective mechanisms that allow it to tolerate this exess in copper.

Key words : copper, radish, phytoremediation, morphophysiological parameters, biochemical parameters, water parameters.

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique	MF : matière fraîche
ALAD : Amini Levulinate déshydratase	Mg : magnésium
ARN : acide ribonucléique	Min : minute
BBC : bleu brillant de coumassie	ml : millilitre
Br : brome	Mo : molybdène
C : Celsius	MS : matière sèche
Cd : cadmium	Ni : nickel
CEC : Capacité d'échange cationique	P : probabilité
Chl : chlorophylle	Pb : plomb
Cl : calcium	Pf : poids frais
cm : centimètre	Pi : poids initial
Co : cobalt	Ppt : poids en pleine turgescence
Cr : chrome	PS : poids sec
Cu : cuivre	RWC : La teneur relative en eau
D : dose	RWL : La perte d'eau par transpiration
EDDS : Ethylène diamine dissuccinate	Si : silicium
EDTA : Ethylène diamine tétra-acétate	UV : ultra-violet
ERO : Espèce réactive d'oxygène	X : quantité de protéines
ETM : éléments traces métalliques	Y : densité optique
Fe : fer	Zn : zinc
g : gramme	µm : micromètre
Hg : mercure	
IFEN : Institut Français de l'Environnement	
Kg : kilogramme	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Tableau périodique des éléments de mendeleiev	03
Tableau 2: Classification des oligo-éléments et des contaminants stricts chez l'homme et chez les plantes supérieure.....	04
Tableau 3 : Caractéristiques des différentes techniques utilisées en phytoremédiation	24
Tableau 4 : Composition de la solution nutritive de Hoagland	31
Tableau 5 : les valeurs de l'élongation foliaire des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) exposés au cuivre	37
Tableau 6 : les valeurs de la longueur des parties racinaires des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) exposés au cuivre.....	39
Tableau 7 : les valeurs de la matière fraîche des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) exposés au cuivre.....	40
Tableau 8 : les valeurs de la matière sèche des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) exposés au cuivre.....	41
Tableau 9: les teneurs en chlorophylle a des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) exposées au cuivre	42
Tableau 10 : les teneurs en chlorophylle b des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>).	43
Tableau 11: Les teneurs en chlorophylle totale des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>)	44
Tableau 12: les valeurs de la teneur relative en eau (%) des plantes du radis exposées au cuivre	45
Tableau 13: Les valeurs de La perte d'eau par transpiration (RWL) des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) exposées au cuivre.....	46
Tableau 14 : les teneurs en protéines totales (mg/g) des feuilles des plantes du radis exposés au cuivre.....	48

Liste des figures

Fig. 1: Origines des métaux lourds dans le sol	05
Fig. 2: Le radis (<i>Raphanus sativus</i>).....	11
Fig. 3: Radis à forcer Rond Ecarlate	13
Fig. 4: Radis à forcer Gaudry 2.....	13
Fig. 5 : Radis ronds	13
Fig. 6 : Les radis longs	13
Fig. 7 : Radis rave Blanche transparente	14
Fig. 8: Radis Violet de Gournay	14
Fig. 9 : Radis rave jaune d'or ovale	14
Fig. 10 : Radis rose d'hiver de Chine	14
Fig. 11 : Radis noir	15
Fig. 12: Mouche du chou	16
Fig. 13: Altise des crucifères	16
Fig. 14: Les différents types de phytoremédiation	19
Fig. 15 : Représentation schématique du processus de phytoextraction des métaux Lourds.....	20
Fig. 16 : Processus de la phytostabilisation des contaminants au niveau du sol	21
Fig. 17 : Processus de la phytodégradation des contaminants au niveau du sol	22
Fig. 18 : Site expérimental de Mazagran	27
Fig. 19 : Le tamisage du sable	28
Fig. 20 : Le rinçage à l'eau ordinaire	28
Fig. 21 : Application de l'esprit de sel	28
Fig. 22 : Le séchage du sable à l'air Libre	28
Fig. 23 : Les étapes du remplissage des pots par le substrats	29
Fig. 24: Les graines du radis (<i>Raphanus sativus</i> L.)	30
Fig. 25 : Les plantules du radis (<i>Raphanus sativus</i> L.)	30
Fig. 26 : Plantules du radis (<i>Raphanus sativus</i>) repiquées dans les pots	30
Fig. 27: Dispositif expérimental des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>)	32
Fig. 28: Etude des Paramètres physiologiques.....	37
Fig. 29: L'effet du cuivre sur l'élongation foliaire des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>)	38

Fig. 30 : l'effet du cuivre sur la longueur des parties souterraines des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) exposées au cuivre	39
Fig. 31 : l'effet du cuivre sur la matière fraîche des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>)	40
Fig. 32 : l'effet du cuivre sur la matière sèche des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) exposées au cuivre	41
Fig. 33 : L'effet du cuivre sur la teneur en chlorophylle a des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>).....	42
Fig. 34 : L'effet du cuivre sur la teneur en chlorophylle b des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>).....	43
Fig. 35 : l'effet du cuivre sur les teneurs en chlorophylle totale des plantes du radis.	44
Fig. 36 : L'effet du cuivre sur La teneur relative en eau (RWC) des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>).....	45
Fig. 37 : L'effet du cuivre sur la perte d'eau par transpiration (RWL) des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>).....	47
Fig. 38 : L'effet du cuivre sur la teneur en protéines totales des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>).....	48

Sommaire

Remerciement

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Partie 01 : Revue bibliographique

Introduction générale 01

Chapitre I : Les métaux lourds

I.1. Généralité sur les métaux lourds 03

I.2. Définition des métaux lourds 03

I.3. Origine de la contamination des sols par les métaux lourds 05

I.3.1. Origines naturelles 05

I.3.2. Origines anthropiques 05

I.4. Pollution par les métaux lourds 06

I.4.1. Cas du cuivre 06

I.4.2. Le cuivre dans le sol 06

I.4.2.1. La teneur moyenne en cuivre du sol 07

I.4.2.2. La mobilité du cuivre dans le sol 07

I.4.3. Le rôle du cuivre dans la plante..... 08

I.4.3.1. Absorption et transfert interne du cuivre 08

I.4.3.2. Carence en cuivre 09

I.4.3.3. Toxicité du cuivre..... 09

I.4.3.4. Stockage du cuivre 10

I.4.3.5. Tolérance 10

Chapitre II: Le radis (*Raphanus sativus*)

II.1. Présentation de l'espèce..... 11

II.2. Origine du radis 11

II.3. Classification botanique du radis..... 12

II.4. Caractéristiques biologiques du radis 12

II.5. Principaux types du radis 12

II.6. Culture du radis	15
II.7. Récolte et conservation du radis	16
II.8. Ravageurs et maladies	16
II.9. Propriétés et valeur nutritive du radis	17

Chapitre III : Phytoremédiation

III.1. Généralité sur la phytoremédiation.....	18
III.2. Définition de la phytoremédiation	18
III.3. Historique de la phytoremédiation	18
III.4. Techniques de la phytoremédiation	18
III.4.1. Phytoextraction	19
III.4.2. Phytostabilisation	21
III.4.3. Rhizofiltration	22
III.4.4. Phytodégradation	22
III.4.5. Phytovolatilisation	23
III.5. Avantages de la phytoremédiation	25
III.6. Limites de la phytoremédiation	25

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1. Site d'étude	27
IV.2. Conditions de culture	27
IV.2.1. Préparation du substrat de culture	27
IV.2.2. Préparation des pots et remplissage du sable	28
IV.3. Matériel végétal	29
IV.3.1. Choix de l'espèce végétale	29
IV.3.2. Germination	29
IV.3.3. Repiquage	30
IV.3.4. Préparation des solutions d'arrosage	30
IV.4. Paramètres étudiés	32
IV.4.1. Etude des paramètres physiologiques	32
IV.4.2. Etude des paramètres hydriques	34
IV.4.3. Etude des paramètres biochimiques	35

Chapitre V : Résultats

V.1. Analyses des paramètres physiologiques	37
V.1.1. Mesure de l'élongation foliaire des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>)	37
V.1.2. Mesure de la longueur des parties souterraines des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>)	38
V.1.3. La masse de la matière fraîche des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) (MF)..	39
V.1.4. La masse de la matière sèche des plantes du radis (<i>Raphanus sativus</i>) (MS)...	40
V.1.5. Teneur en pigments chlorophylliens foliaires	41
V.1.5.1. Teneur en Chlorophylle a	41
V.1.5.2. Teneur en chlorophylle b	43
V.1.5.3. Teneur en chlorophylle totale (a+b)	44
V.2. Analyse des paramètres hydriques	45
V.2.1. La teneur relative en eau (RWC)	45
V.2.2. La perte d'eau par transpiration (RWL)	46
V.3. Analyse des paramètres biochimiques	47
V.3.1. Dosage des protéines totales	47

Chapitre VI : Discussions

VI.1. Effet du cuivre au niveau des paramètres physiologiques	49
VI.1.1. Effet du cuivre sur la teneur en pigments chlorophylliens foliaires	49
VI.2. Effet du cuivre au niveau des paramètres hydriques RWC et RWL	50
VI.3. Effet du cuivre au niveau des paramètres biochimiques (protéines solubles totaux)	50
Conclusion	51
Référence et bibliographique	53
Annexes	

Introduction

Depuis le début du 19^{ème} siècle, l'activité industrielle de nos sociétés n'a cessé de croître et a permis à une partie de l'humanité d'améliorer considérablement ses conditions de vie. Mais, cette exploitation de la nature a eu aussi pour conséquence de dégrader l'environnement au point de devenir une menace pour notre santé. Une des principales préoccupations environnementales est la pollution des sols et des eaux par les métaux. En effet, les friches industrielles, les exploitations minières, les bases militaires abandonnées sont autant de sites où le sol est imprégné de divers éléments métalliques (zinc, plomb, cuivre, cadmium, nickel,...). Or, ces métaux, présents en quantité dépassant souvent celles rencontrées naturellement, peuvent s'accumuler dans la chaîne alimentaire *via* la flore et la faune et aboutir à l'homme à des niveaux de concentration toxiques. (**Chaney et al., 1997**).

Le cuivre est, dans de petites quantités, indispensable pour tous les organismes, mais avec l'augmentation de sa concentration il devient toxique. Lorsque la teneur en cuivre augmente dans le sol, la teneur en cuivre observée dans la plante peut atteindre une concentration critique, variable selon l'espèce végétale, à partir de laquelle apparaissent des symptômes de phytotoxicité (**Marschner 1995**). Cette phytotoxicité peut inhiber la croissance des plantes ou être un facteur de stress physiologique pour le métabolisme de ces dernières (**Ouzounidou et al, 1995**). Cependant, certaines espèces poussant sur des sites présentant de fortes concentrations en ETM ont développé des mécanismes de protection qui leur permettront de tolérer cet excès en métaux (**Punz et Sieghardt, 1993; Marschner, 1995; Larcher, 2003**).

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 nutritionnelle et économique : riche en cellulose, minéraux (calcium, fer, potassium et soufre), peroxydase, proanthocyanidines (protègent les vaisseaux sanguins), vitamine C (**Curtis, 2003**)

La solution pour pallier à ce problème est de traiter les sols contaminés afin d'en retirer les éléments métalliques ou, au moins, de ramener leur concentration à des niveaux acceptables pour la viabilité de l'écosystème. Une de ces méthodes de traitement, apparue au début des années 1990, consiste en l'utilisation de plantes capables de croître sur des sols à forte teneur en métaux et susceptibles d'en mobiliser ou absorber une quantité appréciable. Cette technique, appelée phytoremédiation (**Kumar et al., 1995**), elle constitue une nouvelle technologie permettant de dépolluer les sols contaminés par l'utilisation des plantes. Parmi les différents aspects possibles de cette méthode, figure la phytoextraction. Cette technique in situ est liée aux plantes qui sont capables d'absorber les métaux lourds (Pb, Cu, Cd, Ni, Zn, ...) par leurs racines et de les transporter ensuite vers les parties aériennes (**Zheng et al., 2011**). Pour être efficace, il est nécessaire de disposer de plantes présentant une biomasse élevée.

Dans ce travail, nous nous proposons de tester l'aptitude de radis (*Raphanus sativus*) à décontaminer un sol pollué par le cuivre. Cette étude devrait évaluer l'effet du cuivre sur la physiologie, la croissance et les biomasses végétales des plantes testées.

A cet effet notre travail est organisé comme suit :

Une partie bibliographique incluant trois chapitres

- Le premier est focalisé sur quelques notions générales sur les métaux lourds (cuivre).
- Le deuxième chapitre donne un aperçu général sur le radis (*Raphanus sativus*).
- Alors que le troisième chapitre vise à étudier la phytoremédiation et ces techniques.

Nous sommes attachés à étudier d'une part les effets de ce métal sur une durée d'exposition de deux semaines, en considérant plus particulièrement à l'évolution de trois marqueurs de stress (paramètres morpho-physiologiques, hydriques et biochimiques) et d'autre part de déterminer si elle présente le potentiel suffisant pour être incluse dans des systèmes phytoremédiateurs.

Enfin, la dernière partie constitue la conclusion générale.

CHAPITRE I. LES METAUX LOURDS

I.1. Généralités sur les métaux lourds

La contamination des sols agricoles par les métaux lourds tels que le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu) et le zinc (Zn) est de nos jours une question de santé publique et de conservation de l'environnement. Ces métaux sont présents dans les sols à la suite des activités géogéniques (**Baize, 1997**) ou anthropiques telles que le raffinage, la combustion de combustibles fossiles, l'application d'engrais phosphatés, et des boues d'épuration aux sols (**Kabata-Pendias, 2001**). Les métaux ne sont pas biodégradables et donc peuvent persister dans le sol pendant de longues périodes. Le Zn, Cu et Pb sont toxiques pour les végétaux et les animaux y compris l'homme (**Kabata-Pendias, 2001**).

I.2. Définition des métaux lourds

Le terme métaux lourds désigne les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes, caractérisés par une forte masse volumique supérieure à 5g/cm³ (**Adriano, 2001**).

Tableau 1 : Tableau périodique des éléments de mendeleviev (**Issaka, 2014**).

1 1.0079																	2 4.0026				
H																	He				
3 6.941	4 9.0122															5 10.811	6 12.011	7 14.007	8 16.000	9 18.998	10 20.180
Li	Be															B	C	N	O	F	Ne
11 22.990	12 24.305															13 26.982	14 28.086	15 30.974	16 32.005	17 35.453	18 39.948
Na	Mg															Al	Si	P	S	Cl	Ar
19 39.098	20 40.078	21 44.956	22 47.887	23 50.942	24 51.996	25 54.938	26 55.940	27 58.933	28 58.933	29 63.546	30 65.38	31 69.723	32 72.64	33 74.922	34 78.96	35 79.904	36 83.8				
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr				
37 39.098	38 85.468	39 88.906	40 91.224	41 92.906	42 95.94	43 100	44 101.07	45 102.91	46 106.42	47 107.87	48 112.41	49 114.82	50 118.71	51 121.76	52 127.6	53 126.90	54 131.29				
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe				
55 132.91	56 137.33	57-71	72 178.49	73 180.9	74 186.94	75 188.91	76 190.23	77 193.22	78 195.08	79 196.97	80 200.59	81 204.38	82 207.2	83 208.98	84 (209)	85 (210)	86 (222)				
Cs	Ba	La-Lu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn				
87 (223)	88 (226)	89-103	104 208.98	105 208.98	106 208.98	107 208.98	108 (209)	109 (209)	110 (209)	111 (209)	112 (209)	113 (209)	114 (209)	115 (209)	116 (209)	117 (209)	118 (209)				
Fr	Ra	Ac-Lr	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Uu	Uu	Uu	Uu	Uu	Uu	Uu	Uu	Uu				

La ligne violette délimite les métaux des métalloïdes et non-métaux. Les métaux avec un fond turquoise sont souvent des polluants des écosystèmes et sont cités comme toxiques pour l'homme et son environnement.

On en distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques : métaux essentiels et métaux toxiques.

❖ **Les métaux essentiels ou oligo-éléments** 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 métaux lourds peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil ; c'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn) et du fer (Fe). Par exemple, le zinc (Zn), à la concentration du millimolaire, 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 (**Kabata-Pendias et Pendias, 2001**).

❖ **Les métaux toxiques** 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) (**Loué, 1993**).

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

Tableau 2: 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

Le terme métaux lourds, implique aussi une notion de toxicité. Le terme éléments traces métalliques est aussi utilisé pour décrire ces mêmes éléments, car ils se retrouvent souvent en très faible quantité dans l'environnement (**Baker et Walker, 1990**).

I.3. Origine de la contamination des sols par les métaux lourds

La pollution métallique des sols due à des activités humaines (agricoles, domestiques et industrielles) est souvent citée dans les médias et la bibliographie scientifique. Cependant, les métaux existent naturellement dans les sols car ils sont présents dans la roche mère qui subit notamment des phénomènes d'érosion et d'altération (**Figure 1**). Les métaux lourds comme le plomb, le cadmium, le cuivre et le mercure ne peuvent pas être biodégradés et donc persistent pendant de longues périodes dans le sol ; ce qui constitue un sérieux problème (**Robert et Juste, 1999**).

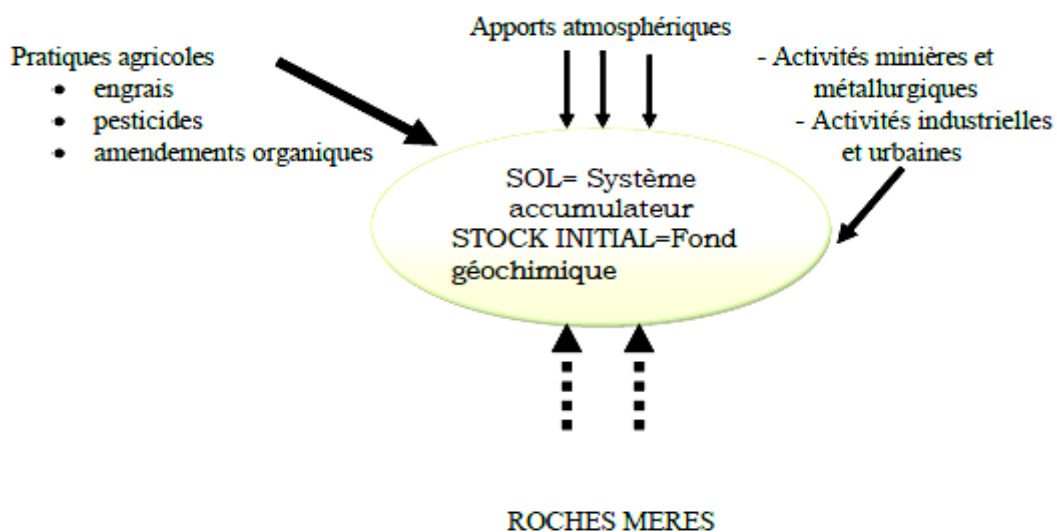


Fig.1: Origines des métaux lourds dans le sol (**Robert et Juste, 1999**).

I.3.1. Origines naturelles

Parmi les importantes sources naturelles, citons l'activité volcanique, l'altération des continents et incendies des 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.3.2. Origines anthropiques

Les sols sont soumis à des apports de métaux lourds plus ou moins importants résultant de l'activité humaine. Au cours des décennies dernières, l'apport de métaux lourds au sol dans le monde s'est étendu. De nos jours, on l'estime à 22000 tonnes de cadmium, 939000 tonnes de cuivre, 783000 tonnes de plomb et 1350000 tonnes de zinc (**Singh et al., 2003**). Les principaux types de pollutions anthropiques responsables de

l'augmentation des flux de métaux, sont la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels), la pollution liée aux activités agricoles et la pollution industrielle (**Singh et al., 2003**).

➤ Les apports en métaux lourds peuvent venir de l'agriculture de par les impuretés présentes dans les engrais, les amendements calcaires, les fumiers, les lisiers (**Franklin et al., 2005**). Ces apports peuvent aussi résulter d'une activité urbaine, industrielle (déchets d'entreprises agro-alimentaires, boues de stations d'épuration, composts, déchets urbains) ou minière. Selon IFEN (2002), l'épandage de déchets urbains contribue à augmenter de 7% le Cd (soit 68 tonnes/an), 5% le Cu (soit 5.300 tonnes/an), 28% le Zn (soit 3.200 tonnes/an) et 3% le Pb (soit 8.300 tonnes/an) dans les sols en France.

➤ Les pollutions atmosphériques sont représentées par les apports diffus aériens d'origine lointaine. Il s'agit des poussières et aérosols provenant des chauffages, des activités industrielles, des moteurs automobiles (**Sezgin et al., 2004**). Ces apports se déposent aussi bien sur des cultures maraîchères que sur des forêts et prairies ou encore dans les jardins des particuliers. Ceux-ci sont véhiculés par les gouttes de pluie, le brouillard, les poussières.

Les apports industriels en métaux lourds proviennent des produits chimiques divers (industrie chimiques), les matières radioactives (centrales nucléaires, traitements des déchets radioactifs) et la métallurgie (**Godin et al., 1985**).

I.4. Pollution par les métaux lourds

I.4.1. Le cuivre

Le cuivre, est un élément du groupe IB du tableau périodique, de masse atomique 63,546 g/mol. Les oligo-éléments comme cuivre, sont des éléments indispensables à la vie mais qui se trouvent présents en proportion très faibles dans les tissus biologiques (**Loué, 1993**). En 1930, le cuivre a été reconnu élément trace essentiel pour les plantes (**Alloway, 1995**).

I.4.2. Le cuivre dans le sol

Le stock d'éléments traces métalliques (ETM) actuellement présent dans les sols représente la résultante de l'héritage du fond géochimique (**Robert et Juste, 1999**), des

apports naturels et anthropiques et des sorties de ce système vers d'autres composantes de l'environnement. Les apports en cuivre dans la biosphère se font principalement par voies naturelles (activité volcanique, feux de forêts, décomposition de la végétation et érosion éolienne) et par voies anthropiques (activités minières, industrielles et agricoles, la production d'énergie et le transport) (**Dameron et Howe, 1998**).

I.4.2.1. La teneur moyenne en cuivre du sol

La concentration moyenne du cuivre dans la lithosphère est de 70 mg/kg (**Loué, 1993**), celles de la croûte terrestre sont comprises entre 24 et 55 mg/kg (**Baker , 1990**) et dans les sols, elle s'étend de 2 à 100 mg/kg avec une valeur moyenne de 30 ppm (**Lindsay W.L, 1979**).

Lorsque la teneur en cuivre augmente dans le sol, la teneur en cuivre observée dans la plante peut atteindre une concentration critique, variable selon l'espèce végétale, à partir de laquelle apparaissent des symptômes de phytotoxicité (**Marschner , 1995**). **Reuter et Robinson (1997)** indique que le seuil de toxicité en cuivre est atteint à partir d'une concentration en cuivre de 15 à 30 mg/kg MS dans les feuilles des plantes cultivées. Or, dans les mêmes conditions, ces plantes accumulent dans leurs racines des concentrations allant jusqu'à 500 mg/kg MS de cuivre (**Marschner, 1995**).

I.4.2.2. La mobilité du cuivre dans le sol

La migration du cuivre est très faible, quel que soit le type de sol (**Delas, 1963**). Dès qu'il est en contact avec le sol, à la suite d'un dépôt atmosphérique ou d'un épandage à des fins agricoles, le cuivre sera fortement adsorbé dans les premiers centimètres du sol (**Zinati et Bryan, 2001**). Néanmoins, la mobilité du cuivre, aussi minime soit-elle, peut se produire, soit sous forme d'un entraînement vertical ou d'un déplacement latéral, soit par absorption et exportation par les végétaux (**Zinati et Bryan, 2001**).

❖ Les entraînements verticaux

Des travaux montrent une mobilité des métaux à l'échelle des horizons des sols et parlent d'une dynamique physique et chimique des ETM dans les sols. La dynamique physique fait référence aux mouvements des ETM vers les horizons inférieurs du profil de sol par lessivage des particules fines ou colloïdales auxquelles ils sont associés. Quant à la

dynamique chimique, elle renvoie aux changements d'état chimique des métaux qui permettraient leur solubilisation (**Cambier et al, 1999**).

❖ **Les entraînements latéraux**

Il s'agit le plus souvent d'une érosion liée à la pente ou à l'absence de couverture végétale du sol. En sols à texture limoneuse (**Montier et al., 1998**) ont découvert qu'il pouvait se former une croûte imperméable (croûte de battance) sous l'influence des eaux de pluie, pouvant entraîner un ruissellement et une érosion consécutive. En ce qui concerne les parcs à résidus miniers, ils sont d'autant plus sensibles à ce ruissellement érosif qu'ils ne possèdent pas de structures, sont composés de particules fines (< 100µm) et n'ont pas de couvert végétal. Par conséquent, sous l'influence d'un régime hydrique important, le ruissellement diffus peut se concentrer dans des dépressions et former de profondes ravines, suivant la pente des versants. Ce système érosif est ainsi capable de charrier une grande quantité de particules riche en cuivre vers des zones non contaminées, et ce, au gré des intempéries (**Montier et al., 1998**).

I.4.3. Rôle du cuivre dans la plante

Le cuivre est un nutriment essentiel pour les plantes (**Marschner, 1995; Larcher, 2003**). Il joue un rôle important dans la photosynthèse (**Loué A, 1993**). En effet, environ 70 % du cuivre d'un végétal se retrouve dans la chlorophylle (**Katyal et Randhawa, 1986**). Il a une fonction capitale dans l'assimilation (**Katyal et Randhawa, 1986**) et la respiration, mais aussi dans le métabolisme protéique, la lignification et la production d'ADN et d'ARN (**Kabata-Pendias, 1992; Marschner, 1995**). En outre, il est nécessaire aux enzymes, car en changeant de valence il assure l'oxydation ou la réduction dans le cycle catalytique (**Loué, 1993**). Cependant, comme tous les éléments majeurs et oligo-éléments, une déficience et un excès de cuivre affectent une multitude de processus physiologiques.

I.4.3.1. Absorption et transfert interne du cuivre

Le prélèvement des ETM par les racines des plantes dépend de nombreux facteurs influençant la biodisponibilité du cuivre dans les sols ainsi que des processus régissant le mouvement des métaux vers les racines. Le cuivre est faiblement mobile dans les plantes comparativement à d'autres métaux, il peut se déplacer en particulier des feuilles âgées sénescents vers les plus jeunes (**Loneragan et al, 1980; Loué, 1993**). Sa translocation des

racines jusqu'aux parties aériennes sera faible et fonction du type de plante, des apports en cuivre et de la saison de croissance. La présence du cuivre dans la sève du xylème et du phloème serait corrélée avec la concentration en composés azotés organiques solubles, tels les acides aminés, avec lesquels le cuivre forme des complexes très stables (**Stevenson et Fitch, 1981**).

I.4.3.2. Carence en cuivre

Selon **Larcher (2003)**, la concentration moyenne en cuivre dans les plantes est de 4 à 20 mg/kg de matière sèche, mais seulement 5 à 10 mg/kg de matière sèche sont requis pour une croissance normale. Une carence en cuivre aura un effet négatif sur le métabolisme carbohydrate (inhibition de la photosynthèse, de la respiration et de la distribution des carbohydrates), le métabolisme de l'azote (fixation de l'azote, dégradation et synthèse de protéines), l'édification de la paroi cellulaire (lignification), les transferts intercellulaires de l'eau, la production de graine (viabilité des pollens) et sur la résistance aux maladies (**Bussler, 1981; Schulte et Kelling , 1999**). Selon **Katyal et Randhawa (1986)**, le seuil de carence pour une plante se situerait aux alentours de 4 mg Cu/kg de matière sèche. De plus, des sols minéraux et organiques contenant respectivement 6 mg et 30 mg Cu/kg de sol sont considérés comme déficitaires en cuivre (**Katyal et Randhawa, 1986**). Les carences se traduisent par des nécroses du méristème apical, une distorsion et une chlorose des jeunes feuilles (**Marschner, 1995**).

I.4.3.3. Toxicité du cuivre

D'après **Balsberg Pålsson (1989)**, le seuil de toxicité chez la majorité des espèces végétales se situerait aux alentours de 20 mg Cu/kg de matière sèche (valeur moyenne trouvée dans différentes espèces de plantes poussant en conditions naturelles) et entre 30 et 50 mg Cu/kg de sol (**Sloof et al., 1989**). Ces doses limites dépendent de la nature pédologique du sol, du pH, de la CEC, de la proportion relative des divers colloïdes dans le sol et enfin de l'espèce végétale cultivée (**Delas , 1963**). La phytotoxicité du cuivre peut inhiber la croissance des plantes ou être un facteur de stress physiologique pour le métabolisme de ces dernières (**Ouzounidou et al, 1995**). Plusieurs travaux ont montré que de fortes concentrations en cuivre dans la solution du sol pourraient causer des chloroses ferriques (**Loué, 1993**). Cependant, ce phénomène ne se manifeste que chez certaines espèces (**Drouineau et Mazoyer , 1962**). De façon générale, la phytotoxicité se manifeste

par des phénomènes de nanisme et un rabougrissement du système racinaire, avec des racines brunâtres (**Marschner, 1995**).

I.4.3.4. Stockage du cuivre

Dans la plupart des plantes, le cuivre a tendance à s'accumuler dans les racines et peut présenter une faible migration vers les organes aériens (**Loneragan, 1981**). De nombreuses études ont comparé les vitesses d'accumulation du cuivre dans ces deux parties chez différentes plantes (**Loneragan, 1981; Chaignon, 2001**) et ont montré que la concentration du cuivre augmentait beaucoup plus rapidement dans les racines que dans les parties aériennes, et ce, proportionnellement aux apports externes. Dans les racines, le cuivre est immobilisé dans les parois cellulaires. Dans les parties aériennes, l'accumulation du cuivre est généralement la plus élevée dans les feuilles juvéniles, et aura tendance à diminuer avec la maturité, parallèlement à leur sénescence et à leur perte en azote (**Loneragan, 1981**).

I.4.3.5. Tolérance

La plupart des plantes sont sensibles aux ETM si leur concentration dans le sol dépasse le seuil de tolérance de la plante. Cependant, certaines espèces poussant sur des sites présentant de fortes concentrations en ETM ont développé des mécanismes de protection qui leur permettront de tolérer cet excès en métaux (**Punz et Sieghardt, 1993; Marschner, 1995; Larcher, 2003**):

- immobilisation dans les parois cellulaires
- imperméabilisation de la membrane plasmique entourant le cytoplasme
- chélation dans le cytoplasme avec des polypeptides sulfurés
- chélation à l'interface cytoplasme/membrane plasmique
- compartimentation dans les vacuoles et
- libération des cations via le lessivage foliaire et l'excrétion racinaire (**Punz et Sieghardt, 1993; Marschner, 1995; Larcher, 2003**).

II.3. Classification botanique du radis

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Brassicaceae
Genre	Raphanus
Nom binominal	<i>Raphanus sativus</i> L. (Cronquist, 1981)

II.4. Caractéristiques biologiques du radis

➤ Morphologie florale:

Les radis cultivés sont considérés comme annuels. Cependant, les grosses variétés tardives devraient plutôt être classées en bisannuelles. Les graines sont rougeâtres arrondies ou un peu allongées, avec des faces ordinairement un peu aplaties. Les feuilles sont de forme obovale et peuvent être sinueuses, crénelées, dentées ou dentelées; les feuilles situées à la périphérie sont à limbes entiers, les feuilles centrales peuvent être fortement découpées en lobes. Les tiges florales de 50 à 80 cm sont rameuses, dressées et creuses; les fleurs sont blanches ou violacées mais jamais jaunes, contrairement à *Raphanus raphanistrum* L.. La racine est charnue, unicolore ou bicolore, de forme cylindrique ou sphérique. Les fruits sont des siliques renflées, spongieuses, non articulées lisses, sans étranglements, insensiblement atténuées en bec. Les siliques peuvent être étalées ou dressées (Gry, 1994).

II.5. Principaux types du radis

Les radis diffèrent par la forme et la couleur de leur racine. Au niveau de la forme il existe des radis ronds, demi-longs (les plus recherchés) ou longs. Ils peuvent être blanc rose pâle, rouge vif, rouge violacé, noir et souvent avec un bout blanc plus ou moins important. Ils se distinguent également selon la période de culture et de récolte :

➤ **Les radis à forcer**

Précoces, avec de petites feuilles, ils sont destinés aux cultures hâtées (sous tunnel plastique) et aux premiers semis sans abri. Ces radis se forment rapidement et doivent être récoltés sans attendre car ils deviennent creux très vite. On trouve des radis à forcer longs, demi-longs et ronds, de couleur rouge, rouge vif avec le plus souvent un bout blanc (**Gnis, 2017**)

❖ Variétés: «Rond Ecarlate», «Gaudry 2»,...



Fig. 3: Radis à forcer Rond Ecarlate (**Gnis, 2017**) **Fig. 4:** Radis à forcer Gaudry 2 (**Gnis, 2017**)

➤ **Les radis de tous les mois**

Ils sont cultivés en pleine terre et sont susceptibles, comme leur nom l'indique, d'être semés pendant une longue période de mi-mars à fin septembre. Les radis peuvent être classés en deux grands types :

✓ les radis de tous les mois qui se distinguent selon leurs formes (ronds ou 1/2 longs), leurs couleurs (unicolores, bicolores, rouges, violets, etc.) et selon leur type « hybride » ou « non hybride ».

✓ les radis raves qui sont de forme longue et se distinguent selon leurs couleurs (blancs, noirs, roses, violets, jaunes, etc.) et selon leur type « hybride » ou « non hybride ».



Fig. 5 : Radis ronds (**Itcmi. 2010**).

Fig. 6 : Radis longs (**Itcmi. 2010**).

➤ **Les radis raves**

Comme les radis de tous les mois, il est possible de les cultiver sur une longue période. Leur durée de culture est plus longue et les récoltes commencent 6 à 8 semaines après le semis. Il s'agit de gros radis longs, étroits et pointus. Ils ont une chair tendre avec une saveur douce. Ils ne deviennent pas creux rapidement (Gnis, 2017)

❖ Variétés: «Blanche transparente», «Violet de Gournay»,... (Gnis, 2017)



Fig. 7 : Radis rave Blanche transparente (Gnis, 2017)



Fig. 8 : Radis Violet de Gournay (Gnis, 2017)

• **Les radis d'été et d'automne**

Ces variétés sont semées durant l'été, de juin à août. Ce sont de gros radis, à racine longue ou ronde, de couleur rose, rouge, rouge vif, blanche. Ils ont une chair tendre, avec un goût prononcé et ne deviennent pas creux rapidement. Ils sont délicieux râpés et consommés en salade (Gnis, 2017).

❖ Variétés: Rave «jaune d'or ovale», «Rose d'hiver de Chine»,... (Gnis, 2017)

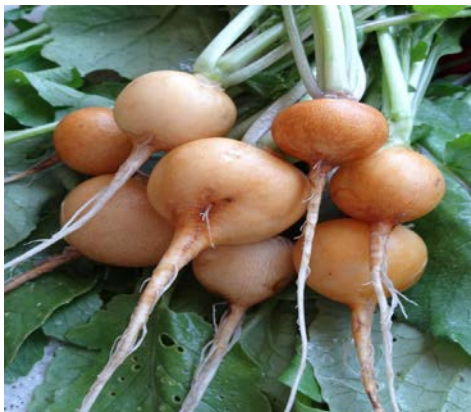


Fig. 9 : Radis rave jaune d'or ovale (Gnis, 2017)



Fig. 10 : Radis rose d'hiver de Chine (Gnis, 2017)

➤ **Le radis d'hiver**

Leur racine est le plus souvent longue et cylindrique, parfois ronde, de couleur noire ou violacée. Leur chair est ferme, de saveur plus ou moins piquante et ils se consomment coupés en tranche. Semés en été, ils se récoltent à partir de novembre. Il est possible de les conserver en cave pour les conserver tout l'hiver (**Gnis, 2017**).

❖ Variétés: «Noir gros long d'hiver», «Noir long maraicher»...



Fig. 11 : Radis noir (Gnis, 2017).

II.6. 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° (**Ircmi, 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 (**Ircmi, 2010**).

II.7. Récolte et conservation du radis

Les périodes de récolte peuvent être étendues, grâce à des plantations répétées, espacées d'une semaine ou deux.

- **Petit radis** : 3 à 4 semaines après le semis.
- **Radis d'été** : 6 à 9 semaines après le semis.
- **Radis d'hiver** : 8 à 12 semaines après le semis (**Itcmi, 2010**).

Lors de la récolte, faite par temps sec pour la conservation, les feuilles sont coupées près de la couronne de même que l'extrémité des longues racines. Il est préférable de laisser sécher durant deux à trois jours les radis destinés à l'entreposage.

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

II.8. Ravageurs et maladies

Les altises percent les feuilles des jeunes plants au mois d'août et les larves de la mouche du chou creusent des sillons et des galeries dans les racines charnues. La pose d'une toile flottante bien hermétiquement ou l'application de neem ou de roténone constituent des techniques de contrôle recommandées (**Sanou et al., 2009**).

Les maladies sont rares quoique la gale commune peut provoquer l'apparition de taches verruqueuses sur la peau, la fonte des semis peut attaquer certains plants et le rhizoctone commun entraîner l'apparition de taches brunâtres sur les tubercules en entreposage (**Sanou et al., 2009**).



← **Mouche du chou**
Cyperméthrine



→ **Altise des crucifères**
Cyperméthrine
Deltaméthrine

Fig. 12: Mouche du chou

Fig. 13: Altise des crucifères

II.9. 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 (**Sanou et al ., 2009**).

Le Radi 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**).

➤ Le radis contient, pour 100 g :

- 243 mg de potassium
- 23 mg de vitamine C
- 20 mg de calcium
- 1,5 g de fibres.
- 94,5 % Eau
- 3,6 g de glucides
- 0,6 g de protéines
- 8 cal d'énergie

CHAPITRE III : PHYTOREMEDIATION

III.1. Généralité 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 (**Gadd, 2000**). 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**).

III.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 et Freeman, 2006 ; Lamb et al., 2010**).

III.3. Historique de la phytoremédiation

L'idée d'utiliser des plantes pour extraire les métaux lourds et leurs composantes fut introduite en 1983, mais le principe est connu depuis 300 ans (**Henry, 2000**). C'est dans les années 90 que le concept de la remédiation (bio et phytoremédiation) émerge comme une nouvelle technologie qui utilise les plantes vertes et des microorganismes associés (bactéries champignons) pour le nettoyage d'un environnement pollué par les métaux, les métalloïdes les radionucléides et les xénobiotiques organiques (**Smits et Freeman, 2006**).

III.4. Techniques de la phytoremédiation

La phytoremédiation regroupe différentes méthodes qui se veulent toutes des techniques d'amélioration des sols et de l'eau contaminés par l'établissement d'un couvert

végétal, soit la phytostabilisation, la phytodégradation, la rhizodégradation, la phytovolatilisation, la rhizofiltration et la phytoextraction. Elles seront appliquées en fonction du type de contamination et des objectifs de remédiation à atteindre (Pivetz, 2001).

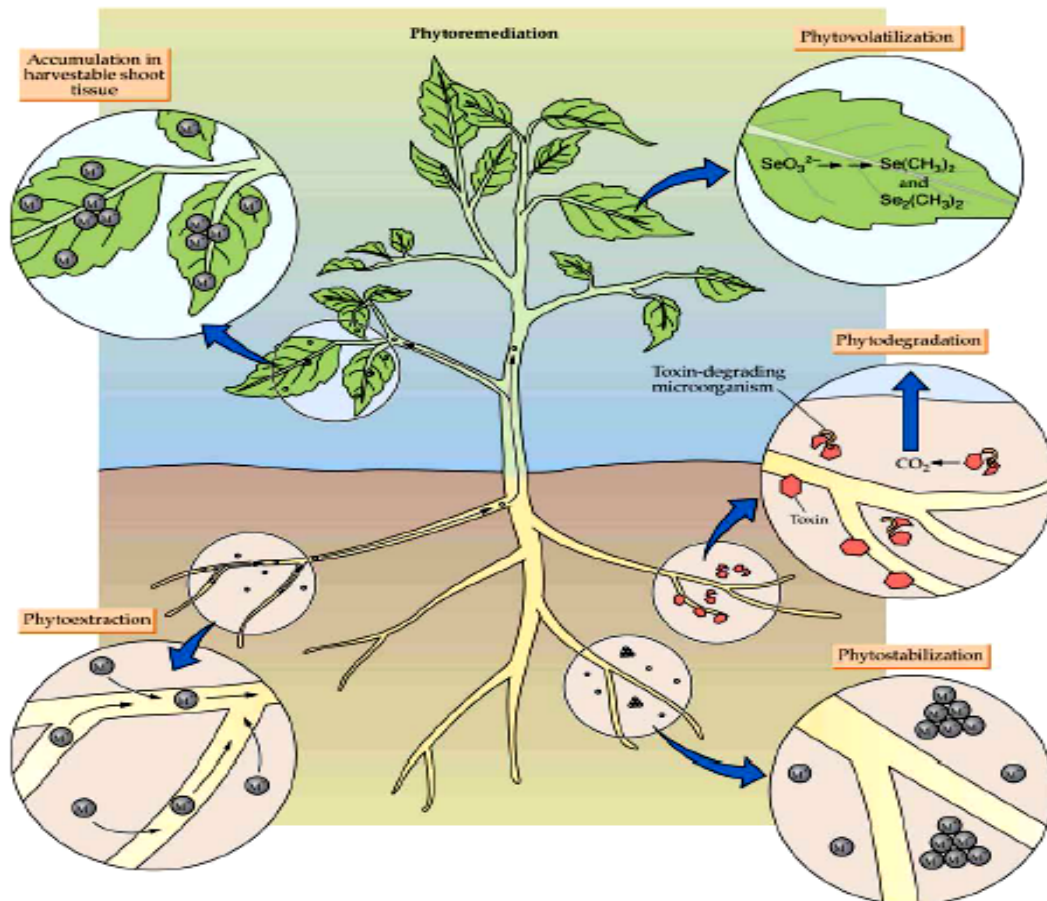


Fig. 14: Les différents types de phytoremédiation (Buchanan *et al.*, 2002).

III.4.1. Phytoextraction

La phytoextraction est une technologie *in situ* liée aux plantes qui sont capables d'absorber les métaux lourds (Pb, Cd, Cu, Zn ...) par leurs racines et de les transporter ensuite vers les parties aériennes (Zheng *et al.*, 2011). Les tiges et les feuilles sont alors récoltées et éliminées des sites pollués. Ceci contribue à rétablir la fertilité de larges zones agricoles, contaminées pour la plupart dans leur couche supérieure (Alkorta *et al.*, 2004); voir figure 15.

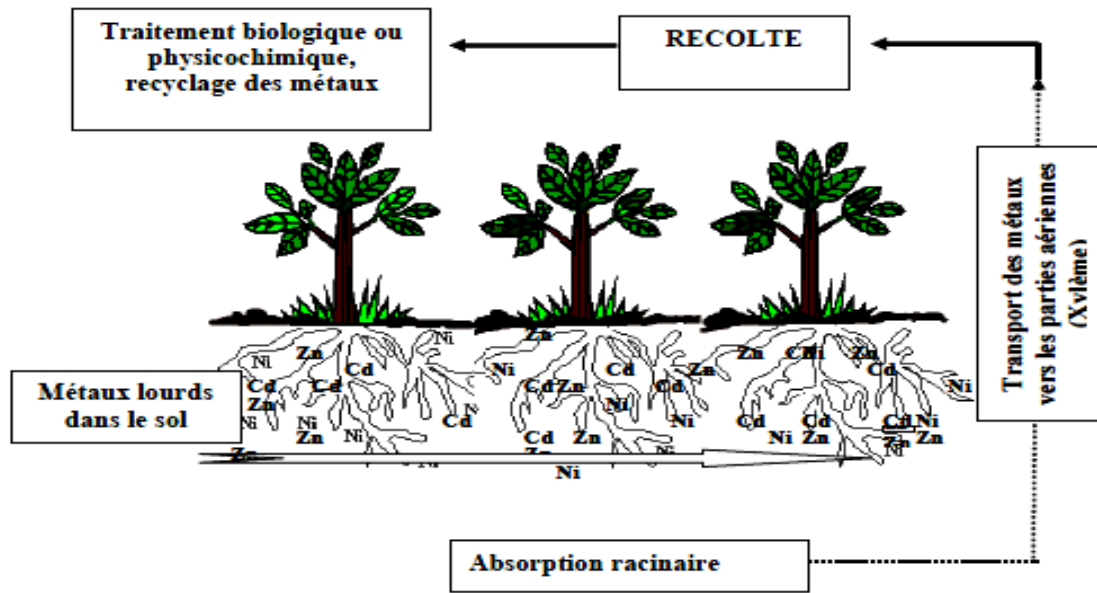


Fig. 15 : Représentation schématique du processus de phytoextraction des métaux lourds (Chedly, 2006).

Deux stratégies sont proposées pour une phytoextraction réussie des sols contaminés par les métaux lourds et autres polluants : phytoextraction naturelle et la phytoextraction induite ou assistée par des chélateurs.

➤ **Phytoextraction naturelle**

Pour qu'une plante soit adéquate pour la phytoextraction d'un polluant donné, elle doit être capable durant toute sa vie de 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 de teneurs importantes de métaux présents sur des sols pollués sans présenter de signes de phytotoxicité (Quartacci *et al.*, 2006 ; Zheng *et al.*, 2011).

➤ **Phytoextraction induite ou assistée par des chélateurs**

Elle est basée sur l'utilisation de chélateurs 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 condition 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

moutarde indienne et le tournesol (Ann-Peer *et al.*, 2003). Cependant, la haute solubilité dans l'eau de certains complexes chélateurs-toxique peut résulter dans leur déplacement vers les couches plus profondes du sol et ceci consiste un risque potentiel important de contamination de l'eau et des estuaires (Ann-Peer *et al.*, 2003).

❖ Les plantes utilisées pour la phytoextraction doivent avoir les caractéristiques suivantes :

- Tolérance à un niveau élevé de métal
- Accumulation raisonnable du métal dans les parties aériennes
- Croissance rapide
- Production importante de biomasse au terrain
- Avoir un système racinaire dense et capable de coloniser le sol/ sédiment en profondeur (Ann-Peer *et al.*, 2003).

III.4.2. 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). Certains 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).

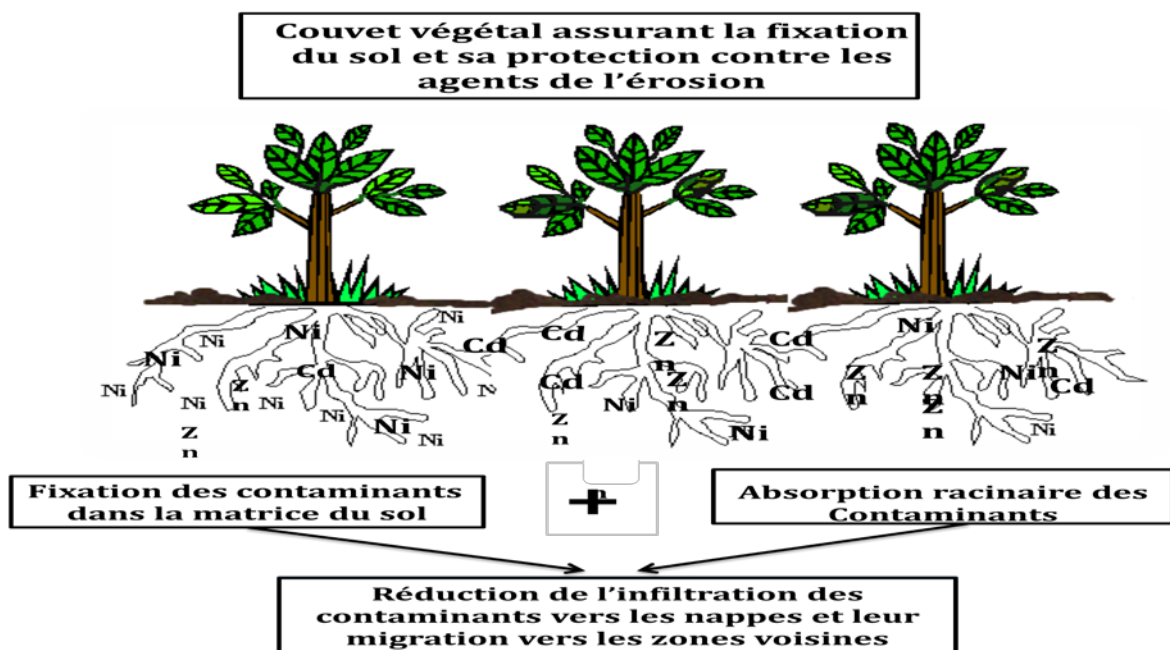


Fig. 16 : Processus de la phytostabilisation des contaminants au niveau du sol (Chedly, 2006).

III.4.3. Rhizofiltration

C'est un procédé similaire à la phytoextraction dans lequel les composés métalliques sont accumulés au niveau des racines. La rhizofiltration s'utilise plus facilement sur des cultures hors-sol ou l'élément à dépolluer est de l'eau contaminée. Dès que les racines sont saturées en métaux, on récolte les plantes puis on les traite selon le même principe qu'en phytoextraction (**Repellini, 2000**).

III.4.4. Phytodégradation

La phytodégradation (ou phytotransformation) consiste à convertir des polluants organiques en composés moins toxiques voire même être totalement minéralisés. Cette décomposition est réalisée grâce à des enzymes variées sécrétées par la plante (**Chaudhry et al., 1998**).

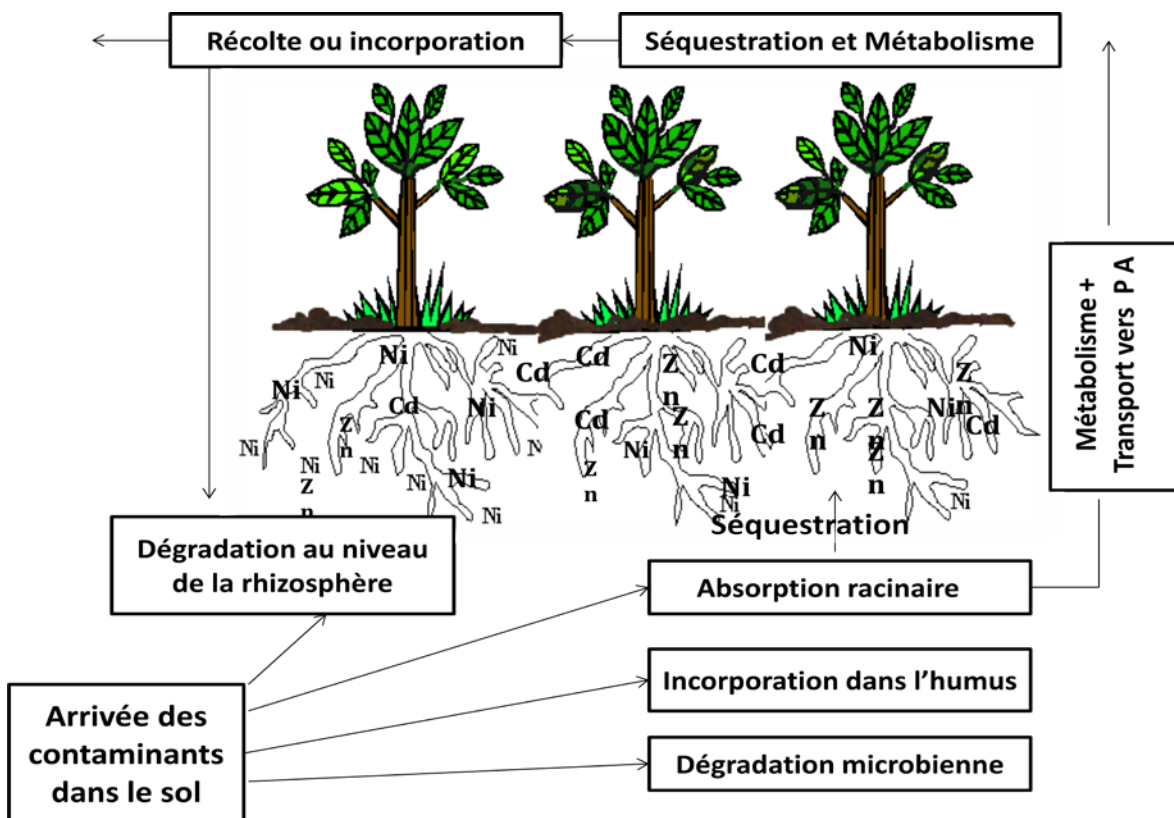


Fig. 17 : Processus de la phytodégradation des contaminants au niveau du sol (**Chedly, 2006**).

III.4.5. Phytovolatilisation

Dans ce procédé, les contaminants solubles sont absorbés par les racines, transportés vers les feuilles et volatilisés dans l'atmosphère par les stomates sous formes moins toxiques ou après une modification métabolique. Ainsi, le sélénium peut être relâché dans l'atmosphère sous forme de diméthyle sélénite ou de diméthyle disélénite (**Zayed *et al.*, 1998**).

Les phytotechnologies, ainsi que leurs avantages et inconvénients, sont présentées dans le tableau. **Voir tableau 3.**

Tableau 3 : Caractéristiques des différentes techniques utilisées en 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 (Agrostis tenuis)	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

III.5. Avantages de la phytoremédiation

La phytoremédiation est de plus en plus utilisée de nos jours puisqu'elle contribue au maintien de la structure des sols étant donné qu'elle ne nécessite aucune excavation (EPA., 2012). En plus d'être reconnue comme un choix économique comparativement aux techniques de décontamination conventionnelles, la phytoremédiation est largement acceptée par le grand public puisque peu d'impact y sont associés. Plusieurs d'autres avantages sont attribués à cette technique de décontamination, dont la quantité de résidus générés par la phytoremédiation. Cela dit, lorsque l'on a recours à des technologies classiques, le volume de matière à enfouir ou à incinérer est plus élevé si l'on utilise la phytoremédiation (réduction de plus de 95%) (Forget., 2004 ; Ghosh et Singh., 2005). De plus, l'utilisation de ces phytotechnologies est applicable à une grande variété de sites contaminés, que ce soit pour une contamination organique ou inorganique, une contamination au niveau des sols ou encore dans les eaux souterraines, la phytoremédiation est maintenant une option à considérer. Sans oublier que la présence de végétation sur un site contribue à réduire ou prévenir l'érosion et procure un avantage visuel au paysage (Vishnoi et Srivastava., 2008). L'énergie utilisée pour décontaminer les sites où des techniques de phytoremédiation ont lieu est le soleil, ce qui est avantageux pour l'environnement puisque les techniques traditionnelles vont plutôt opter pour une énergie sale. Par exemple pour l'excavation, c'est l'essence qui fait rouler la machinerie et qui malheureusement pollue énormément et crée des dérangements sonores. En plus de n'utiliser aucune énergie fossile lors de la décontamination, la phytoremédiation a en général un impact positif sur l'environnement. En effet, les végétaux sont reconnus pour améliorer la qualité de l'air et leur capacité de séquestrer les gaz à effet de serre (Itrc., 2009).

III.6. Limites de la phytoremédiation

Comme Forget (2004) l'a si bien dit dans un de ses articles : « comme toute technique de décontamination des sols, la phytoremédiation comporte certaines limites avec lesquelles il faut composer ». Une des premières limitations est le contact entre rhizosphère et les contaminants présents dans le milieu à décontaminer (Epa., 2000). La capacité des plantes à atteindre une profondeur de par leurs racines dépend de l'espèce végétale et des conditions géomorphologiques et climatiques (Epa., 2000). Par exemple certaines espèces d'arbres comme le peuplier ont des racines qui potentiellement peuvent atteindre une profondeur de 15 pieds dans les sols tandis que celles des arbustes vont être

plus superficielles (**Epa., 2000**). Enfin, la phytoremédiation doit se restreindre aux sites présentant une contamination peu profonde et dont les concentrations sont relativement faibles pour que les plantes soient en mesure de croître de façon convenable afin de capter tous les contaminants (**Ghosh et singh., 2005**). Ces contaminants absorbés par les végétaux peuvent aussi présenter un risque potentiel pour l'environnement puisqu'ils peuvent se retrouver dans la chaîne alimentaire si les animaux ingèrent des plantes contaminées (**Gouvernement de Canada., 2008**). D'ailleurs, plusieurs études ont démontré que certains animaux et insectes ne consommaient pas les plantes contaminées puisqu'elles avaient un mauvais goût (**Chaney et autre., 2000**). Le taux de croissance des végétaux des végétaux va aussi influencer la phytoremédiation puisque plusieurs années peuvent être nécessaires afin d'atteindre un niveau de décontamination acceptable.

Enfin, bien que certaines plantes soient reconnues pour accumuler des quantités élevées de contaminants, le choix des plantes en phytoremédiation doit être réfléchi. Cela dit, il est préférable de ne pas opter pour des plantes qui ne sont pas natives au site où la décontamination in situ a lieu et d'éviter celles qui sont envahissantes. Ces précautions vont contribuer au maintien de la biodiversité déjà en place (**Ghosh et singh., 2005**).

CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES

IV.1. Site d'étude

L'expérimentation a été réalisée au niveau d'une serre en verre au sein de l'atelier agricole de l'université Abdelhamid Ibn Badis situé à mazagran environ 5 km de la ville de Mostaganem.

- Cette serre est caractérisée par une température qui varie entre 15 et 20 °C en hiver.



Fig. 18 : Site expérimental de Mazagran

Les analyses effectuées sont réalisées au laboratoire de la biodiversité et conservation des eaux et des sols de l'université Abdelhamid Ibn Badis (Mostaganem).

IV.2. Condition de culture

IV.2.1. Préparation du substrat de culture

Le substrat utilisé dans ce travail est du sable des dunes ayant subi :

- Un tamisage approprié pour éliminer les débris et les déchets végétaux, animaux et toutes les pierres afin d'obtenir un sable fin et net
- Des lavages successifs à l'eau ordinaire environ 3 fois.

- Un traitement à l'esprit de sel pour éliminer les sels, les carbonates, les chlorures...etc.
- Des rinçages répétés à l'eau ordinaire (03 fois) et à l'eau distillée (02 fois) afin de supprimer toute trace de chlore.
- Un test de nitrate d'argent a été réalisé pour vérifier la pureté du substrat.
- En fin, un séchage à l'air libre.

❖ **Les différentes étapes de la préparation du substrat de culture.**



Fig. 19 :Le tamisage du sable



Fig. 20 : Le rinçage à l'eau ordinaire



Fig. 21 : Application de l'esprit
de sel



Fig. 22 : Le séchage du sable à
l'air Libre

IV.2.2. Préparation des pots et remplissage du sable

Les pots utilisés pour les expérimentations sont des pots en plastiques. Ils ont un diamètre au sommet de 19 cm avec une profondeur de 17 cm. Chaque pot a une contenance d'environ 02 kg. Ils sont remplis par une quantité de 1880g de mélange sable et terreau (deux volumes sable / un volume de terreau). Avant la mise du substrat au pot, le

Le fond des pots est tapissé d'une couche de gravier afin d'assurer le drainage. Cette valeur de poids est retenue pour déterminer la capacité de rétention de ce substrat (400 ml/pot).



Figs. 23 : Les étapes du remplissage des pots par le substrats

IV.3. Matériel végétal

IV.3.1. Choix de l'espèce végétale

Le radis (*Raphanus sativus*), de la famille Crucifères, a été choisi en raison de son utilisation au laboratoire comme plante modèle pour les études de toxicologie de différents polluants (*Forbes et al., 2006*). De plus, l'utilisation du radis (*Raphanus sativus*) présente de nombreux intérêts : croissance rapide, biomasse importante, sensibilité aux métaux lourds.

IV.3.2. Germination

Les graines de Radis (*Raphanus sativus*) sont lavées avec de l'eau de javel dosée à 1°, pendant 5 minutes pour éliminer toute contamination fongique. Après plusieurs rinçages à l'eau distillée, les graines sont semées dans des alvéoles contenant du terreau pour la production des plantules.

Les alvéoles ont été déplacées sous serre de l'atelier agricole de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, dans l'attente de la germination. Ces alvéoles sont arrosées avec de l'eau distillée à raison de trois fois durant une seule semaine.



Fig. 24: Les graines du radis
(*Raphanus sativus* L.)



Fig. 25 : Les plantules du radis
(*Raphanus sativus* L.)

IV.3.3. Repiquage

Au niveau de la serre, au bout du septième jour de la germination et après l'apparition des deux premières feuilles, les plantules sont repiquées dans des pots à raison d'une plantule par pot. Ces plantules sont arrosées trois fois par semaine à raison de deux fois par solution nutritive et une fois par l'eau distillée et cela pendant trente quatre jours après le repiquage.

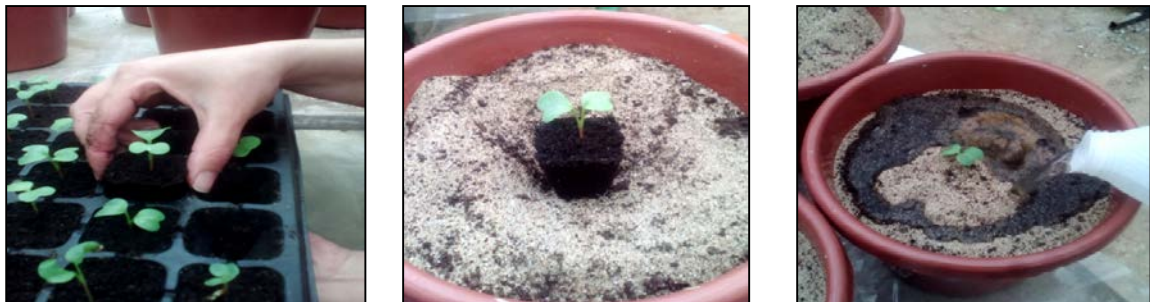


Fig. 26 : Plantules du radis (*Raphanus sativus*) repiquées dans les pots.

IV.3.4. Préparation des solutions d'arrosage

➤ Solution nutritive

L'arrosage des plantes se fait une fois par semaine par l'eau distillé et deux fois par semaine par la solution nutritive de Hoagland (**Hoagland 1938**) à raison de sa concentration est de 40g/20L. Elle se compose de macroéléments et microéléments selon les compositions suivantes (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Composition de la solution nutritive de Hoagland (1938).

Solution mère		Poids g/l
Macroéléments		
Nitrate de potassium	KNO_3	191.90
Nitrate de calcium	$(\text{NO}_3)_2 \text{Ca} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	129.80
Nitrate d'ammonium	$\text{NO}_3 \text{NH}_4$	210.00
Sulfate de magnésium	$\text{SO}_4 \text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	61.50
Phosphate mono potassium	$\text{PO}_4 \text{H}_2\text{K}$	54.40
Di- potassium hydrogénophosphate	$\text{PO}_4 \text{K}_2 \text{H} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	34.23
Microéléments		
Chlorure de manganèse	$\text{Cl}_2 \text{Mn} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.80
Sulfate de cuivre	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.176
Sulfate de zinc	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.219
Acide borique	$\text{BO}_3 \text{H}_3$	2.861
Molybdate d'ammonium	$\text{MO}_7 \quad \text{O}_{24}(\text{NH}_4)$ $7\text{H}_2\text{O}$	0.285
$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FeNaO}_8$	Complexe ferrique	0.050

➤ **Préparation et application de la solution de stress métallique**

Le cuivre est apporté sous forme de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) à des doses différentes : 0 ppm (témoin), 400 ppm (dose 01), 800 ppm (dose 02), 1000 ppm (dose 03).

- **Dose 01: 400ppm** —————> 1572 ppm = 1.572 g/l
- **Dose 02: 800ppm** —————> 3144 ppm = 3.144 g/l
- **Dose 03: 1000ppm** —————> 3930 ppm = 3.93 g/l

NB : 1000 ppm = 1g/l

L'opération du stress convenu, est effectuée aux plantes pendant quinze jours à raison d'une fois par semaine en respectant la capacité de rétention (400 ml/ pot). Elle se répartie en trois traitements; pour les quatre répétitions.

Au bout des trente sixièmes jours (5^{ème} semaine) après le repiquage, la première application est effectuée le 18/04/2017 et la deuxième application est effectuée le 25/04/2017.

➤ Les plantes traitées sont arrosées trois fois par semaine : deux fois par solution nutritive de Hoagland (1938) et une fois par la solution de stress ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) pendant 15 jours.

➤ Les plantes du témoin sont arrosées trois fois par semaine : deux fois par solution nutritive de Hoagland (1938) et une fois par l'eau distillée.



Fig. 27: Dispositif expérimental des plantes du radis (*Raphanus sativus*)

IV.4. Paramètres étudiés

IV.4.1. Etude des paramètres physiologiques

A la fin des expériences ; les plantes du radis (*Raphanus sativus*) de quatre répétitions par traitement, sont récoltées et rincées rapidement dans trois bains successifs à l'eau distillée. Les échantillons sont subdivisés en deux parties : parties aériennes (feuilles) et parties sous terraines (tubercule et racines) et sont pesés pour la détermination de la matière (MF), l'élongation foliaires et racinaires des plantes ; puis placés dans le réfrigérateur à 4°C pour les analyses biochimiques (Dosage de la chlorophylle et des protéines totales) et hydriques (RWC, RWL) au niveau de laboratoire ou desséchés pour la détermination de la matière sèche (MS).

➤ **Mesure de l'élongation foliaire**

L'élongation foliaire des plantes du Radis (*Raphanus sativus*) est mesurée à l'aide d'une règle graduée en (cm). Les valeurs obtenues sont les moyennes des quatre répétitions par traitement.

➤ **Mesure de la longueur des parties sous terraines (PPS)**

La longueur des parties souterraines des plantes du radis (*Raphanus sativus*) est mesurée à l'aide d'une règle graduée en (cm). Les valeurs obtenues sont les moyennes des quatre répétitions par traitement.

➤ **La masse de la matière fraîche (MF)**

Les plantes du radis (*Raphanus sativus*) sont pesées pour la détermination de la matière fraîche (MF) en gramme. Les valeurs obtenues sont les moyennes des quatre répétitions par traitement.



Fig 28 : la masse de la matière fraîche des plantes du radis.

➤ **La masse de la matière sèche (MS)**

Après la prise de la masse de la matière fraîche des plantes du radis (*Raphanus sativus*), qui sont enveloppées dans un papier aluminium et placées dans l'étuve à 80°C pendant une semaine pour déterminer la masse de la matière sèche. Les valeurs obtenues sont les moyennes des quatre répétitions par traitement.

➤ **Dosage de la chlorophylle**

L'extraction de la chlorophylle **a** et **b** est réalisée selon la méthode de **Lichtenthaler (1987)** et **Shabala et al. (1998)** et au niveau de l'avant dernière feuille.

Dans des tubes à essai, on ajoute à 100 mg d'échantillon frais, coupé en petits fragments, 10 ml d'acétone à 95%, l'ensemble est conservé dans l'obscurité et à 4°C pendant 48 heures.

Les concentrations de la chlorophylle « **a** », de la chlorophylle « **b** » sont effectués à l'aide d'un spectrophotomètre à UV et à des densités optiques respectives de 662 nm et 646 nm.

L'appareil est étalonné avec la solution témoin à base d'acétone à 95%. Les teneurs de la chlorophylle **a**, de la chlorophylle **b** et les chlorophylles totales sont calculées par les formules suivantes :

$$\text{Chl a (mg.L}^{-1}\text{)} = 12,25 \times \text{Do (662)} - 0,99 \times \text{Do (664)}.$$

$$\text{Chl b (mg.L}^{-1}\text{)} = 21,42 \times \text{Do (664)} - 4,65 \times \text{Do (662)}.$$

$$\text{Chlorophylle totale (mg.L}^{-1}\text{)} = \text{Chl a} + \text{Chl b}.$$

IV.4.2. Etude des paramètres hydriques

➤ **La teneur relative en eau (RWC)**

La teneur relative en eau est déterminée selon la méthode de (Barrs et Weatherley, 1962) puis par (Scippaet *al.*, 2004), la feuille est coupée à la base du limbe et immédiatement pesée pour donner le poids frais (**PF**), puis la feuille a été trempée dans un tube à essai contenant de l'eau distillée, l'ensemble est placé dans l'obscurité et à une température de 4°C pendant 24 heures. Les feuilles récupérées sont délicatement essuyées avec un papier buvard pour éliminer l'eau de la surface, puis ensuite repesées pour donner le poids après réhydratation maximale (poids en pleine turgescence (**PPT**)). Le poids sec (**PS**) est déterminé après passage des feuilles dans l'étuve réglée à 80°C pendant 48 heures.

- La teneur relative en eau RWC est calculée selon la formule suivante :

$$\text{RWC (\%)} = [(\text{P}_F - \text{P}_s) / (\text{P}_{PT} - \text{P}_s)] \times 100$$

➤ **La perte d'eau par transpiration (RWL)**

La perte d'eau par transpiration est déterminée selon la méthode de (**Clarke et Mclaig., 1982**). La feuille est coupée à la base du limbe, la partie sélectionnée est trempée immédiatement dans un tube à essai contenant de l'eau distillée, l'ensemble est placé dans l'obscurité et à une température de 4°C pendant 24 heures. A la pleine turgescence, les feuilles sont essuyées et pesées, ce qui constitue le poids initial (Pi). Elles sont ensuite placées sur une paillasse au laboratoire, à une température ambiante. Des pesées sont effectuées à trois temps différents : après 30 min (RWL 30), 60 min (RWL 60), 120 min (RWL 120).

- La perte d'eau par transpiration est déterminée par l'équation selon (**Clarke et Mclaig., 1982**) puis (**ARAUS et al., 1991**).

$$RWL_x \text{ (mg d'eau perdu.cm}^{-1}\text{.min}^{-1}\text{)} = (P_i - P_{t_x}) \cdot \frac{1}{\text{surface.temps}}$$

IV.4.3. Etude des paramètres biochimiques

➤ **Dosage des protéines totales**

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

On prend 100 mg d'échantillon, puis on procède à leur broyage à l'aide d'un mortier et un peu d'eau distillée .après on récupère dans des tubes à essai un peu d'eau de chaque prélèvement broyé (0,1 mg) auquel on ajoute 5 gouttes d'eau distillée. Puis dans des tubes à essai propre on prélève 0.2ml de la solution précédente et 1.6ml d'eau distillée (à l'aide d'une micropipette). 5 minutes avant la lecture on ajoute 0,2ml du réactif de Bradford (Loo mg de BBC) bleu brillant de coumassie (G 250) + 50ml d'éthanol à 95% agité grâce à un agitateur pendant 2 heures, pour rajouter 100 ml d'acide ortho phosphorique à 85% et complété a l'eau distillée pour obtenir 1 litre de contenance.

Le dosage se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde 595 nm après

l'étalonnage de l'appareil par une solution témoin contenant 108 ml d'eau distillée + 0.2ml du réactif de Bradford.

- La quantité des protéines a été déterminée a partir de la formule :

$$Y = 0.0123X + 0.0118$$

X : quantité de protéines en (mg/L)

Y : densité optique.

CHAPITRE V : RESULTATS

V. 1. Analyses des paramètres morphophysologiques**II.1.1. Mesure de l'élongation foliaire des plantes du radis (*Raphanus sativus*)**

Les résultats obtenus (tableau 5), montrent que l'élongation foliaire des plantes du radis (*Raphanus sativus*) diminue légèrement en fonction de l'accroissement des doses de cuivre appliquées.

En absence de cuivre et au niveau des plantes témoins, On a enregistré une longueur moyenne estimée à $48,88 \pm 7,33$ cm. En présence de cuivre, l'élongation foliaire des plantes du radis (*Raphanus sativus*) qui ont été traitées à différentes concentrations de cuivre ; diminue d'une façon non significative avec une probabilité qui est égale 0,17 ($P \geq 0,05$) pour les doses D1, D2 et D3, les moyennes de la longueur des plantes sont évaluées respectivement $43,63 \pm 3,57$ cm $42,05 \pm 5,38$ cm et $41,13 \pm 1,65$ cm.

Tableau 5 : les valeurs de l'élongation foliaire des plantes du radis (*Raphanus sativus*) exposés au cuivre.

Dose du cuivre en ppm	l'élongation foliaire (cm) ^{NS}
D0 (0 ppm)	$48,88 \pm 7,33$
D1 (400 ppm)	$43,63 \pm 3,57$
D2 (800 ppm)	$42,05 \pm 5,38$
D3 (1000 ppm)	$41,13 \pm 1,65$

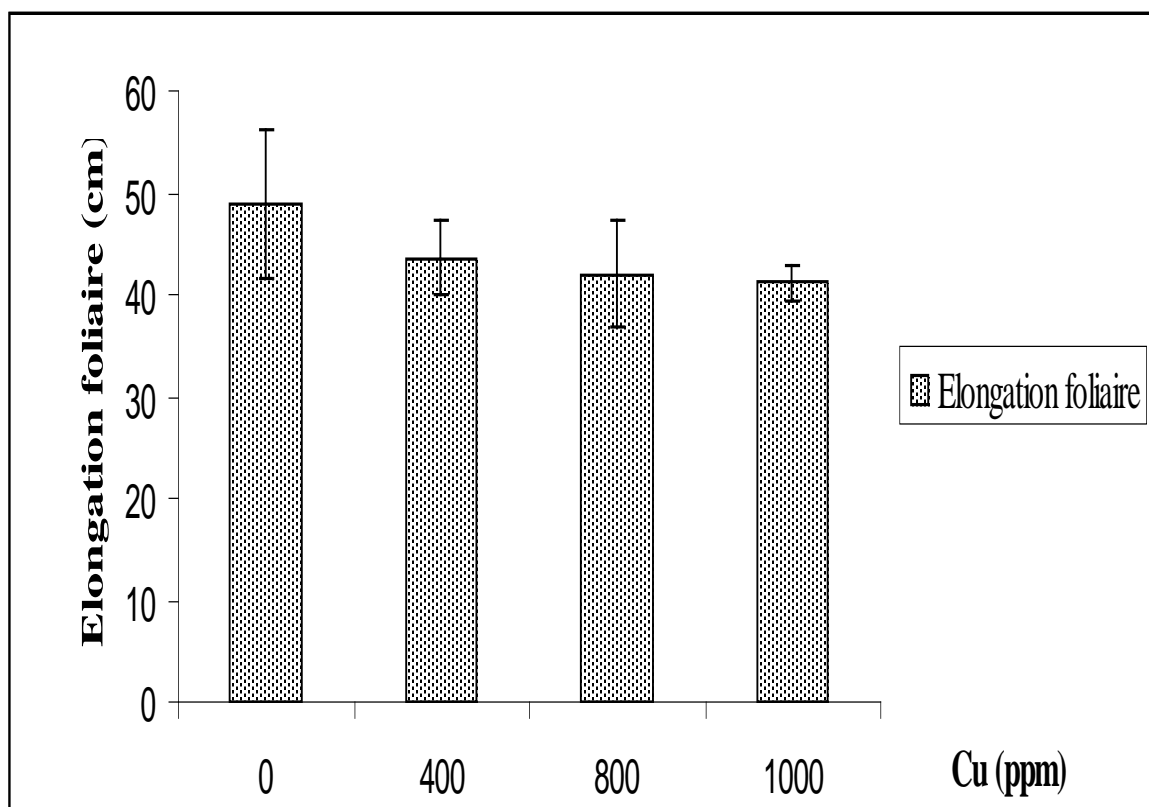


Fig. 29: L'effet du cuivre sur l'élongation foliaire des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

V.1.2. Mesure de la longueur des parties souterraines des plantes du radis (*Raphanus sativus*)

Les résultats obtenus (tableau 6), montrent que la longueur des parties racinaires des plantes du radis (*Raphanus sativus*) diminue légèrement en fonction de l'accroissement des doses du cuivre appliquées.

Dans les conditions optimales, on a enregistré une élongation racinaire des plantes témoins estimé à $31,625 \pm 6,82$ cm. En présence du cuivre, la longueur des parties racinaires des plantes du radis (*Raphanus sativus*) diminue d'une façon non significative avec une probabilité qui est égale 0,6 ($P \tilde{A} 0,05$) pour les doses D1, D2 et D3 ; les moyennes de la longueur des plantes sont évaluées respectivement $29,875 \pm 5,02$ cm, $27,95 \pm 2,17$ cm et $27,525 \pm 5,25$ cm.

Tableau 6 : les valeurs de la longueur des parties racinaires des plantes du radis (*Raphanus sativus*) exposés au cuivre.

Dose du cuivre en ppm	longueur des parties racinaires (cm) ^{NS}
D0 (0 ppm)	31,625 ± 6,82
D1 (400 ppm)	29,875 ± 5,02
D2 (800 ppm)	27,95 ± 2,17
D3 (1000 ppm)	27,525 ± 5,25

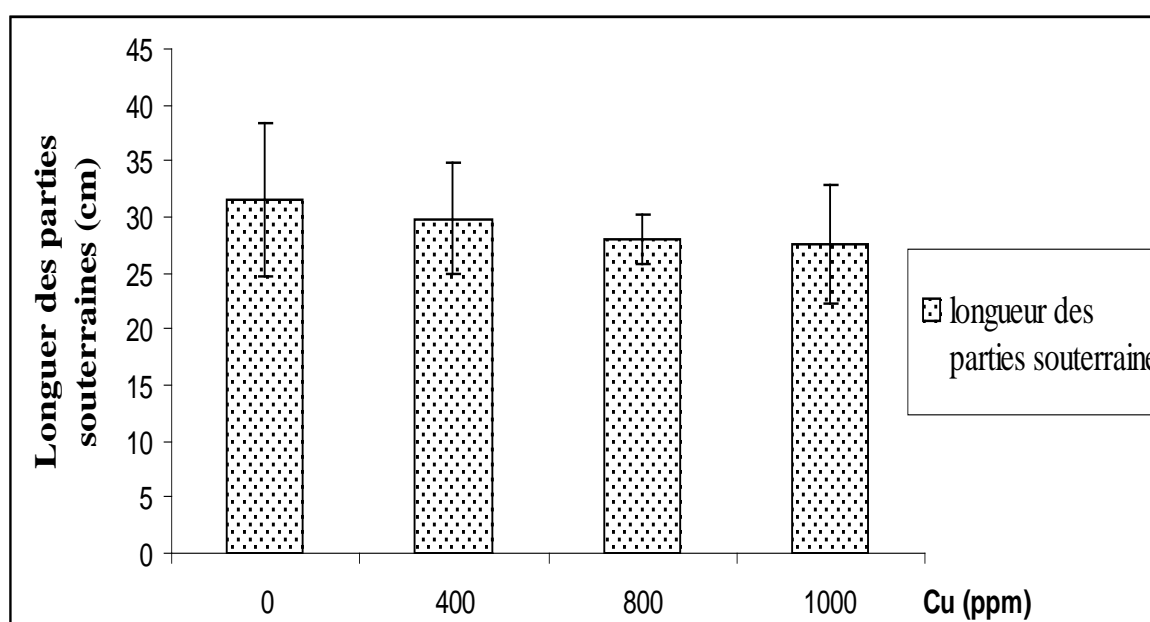


Fig. 30 : l'effet du cuivre sur la longueur des parties souterraines des plantes du radis (*Raphanus sativus*) exposées au cuivre

V.1.3. La masse de la matière fraîche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) (MF)

L'examen des résultats obtenus (tableau7), montrent que la matière fraîche (MF) des plantes du radis (*Raphanus sativus*) diminue légèrement en fonction de l'accroissement des doses du cuivre appliquées.

En absence du cuivre, la masse de matière fraîche des plantes témoins enregistré est estimé à 276,93 ± 20,87g. En présence du cuivre, la masse de la matière fraîche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) qui ont été traitées par différentes doses du cuivre est diminuée d'une façon non significative avec une probabilité qui est égale 0,1 (P > 0,05)

pour les doses D1, D2 et D3, les moyennes du poids frais des plantes sont évaluées respectivement $268,13 \pm 29,92$ g, $242,88 \pm 32,26$ g et $237,33 \pm 2,38$ g.

Tableau 7 : les valeurs de la matière fraîche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) exposés au cuivre.

Dose du cuivre en ppm	MF (g) ^{NS}
D0 (0 ppm)	$276,93 \pm 20,87$
D1 (400 ppm)	$268,13 \pm 29,92$
D2 (800 ppm)	$242,88 \pm 32,26$
D3 (1000 ppm)	$237,33 \pm 2,38$

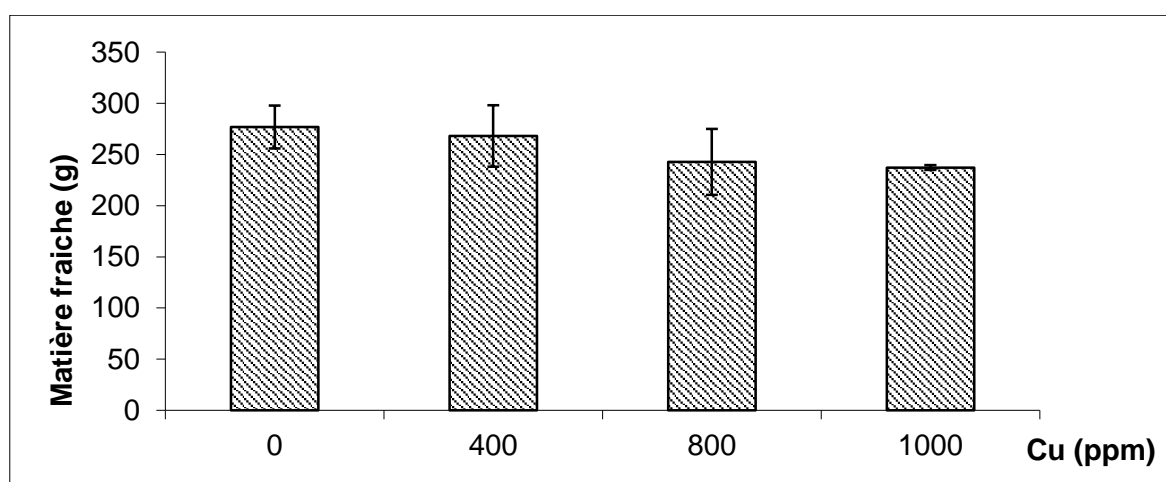


Fig. 31: l'effet du cuivre sur la matière fraîche des plantes du radis (*Raphanus sativus*)

V.1.4. La masse de la matière sèche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) (MS)

L'examen des résultats obtenus (tableau 8), montrent que la masse de la matière sèche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) diminue légèrement en fonction de l'accroissement des doses du cuivre appliquées.

En absence du cuivre, La masse de la matière sèche des plantes témoins enregistré est estimée à $23,28 \pm 3,02$ g. En présence du cuivre, La masse de la matière sèche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) qui ont été traitées par doses différentes du cuivre est diminuée d'une façon non significative avec une probabilité qui est égale 0,4 ($P \geq 0,05$) pour les doses D1, D2 et D3, les moyennes du poids des plantes séchées sont évaluées respectivement $21,43 \pm 1,35$ g, $20,43 \pm 2,39$ g et $20,43 \pm 2,39$ g.

Tableau 8 : les valeurs de la matière sèche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) exposés au cuivre.

Dose du cuivre en ppm	MS (g) ^{NS}
D0 (0 ppm)	23,275 ± 3,02
D1 (400 ppm)	21,425 ± 1,35
D2 (800 ppm)	20,425 ± 2,39
D3 (1000 ppm)	18,6 ± 6,39

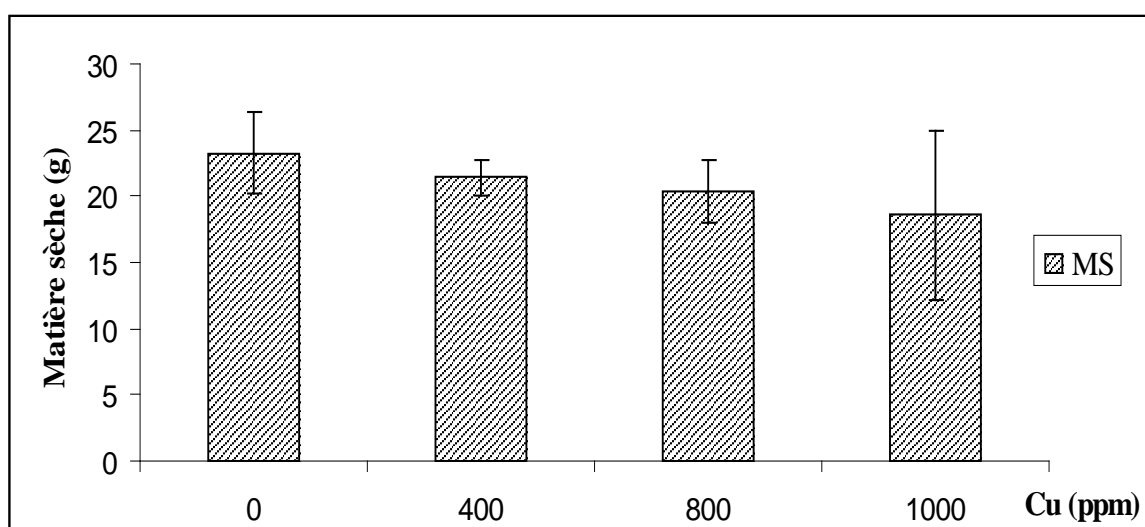


Fig. 32: l'effet du cuivre sur la matière sèche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) exposées au cuivre.

V.1.5. Teneur en pigments chlorophylliens foliaires

L'effet du cuivre sur la teneur en pigments chlorophylliens foliaires des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

V.1.5.1. Teneur en Chlorophylle a

Les résultats obtenus (tableau 9) montrent que l'application croissante du cuivre entraîne une réduction non significative des teneurs relatives en chlorophylle **a**, sauf qu'au niveau du lot D2 où on a enregistré une quantité de 933,92 µg/g. Dans les conditions optimales (D0), on a signalé une quantité estimée à 875,9 µg/g et au niveau des plantes

issues des traitements D1 et D3, on constate une légère diminution des teneurs relative en chlorophylle **a** par rapport au témoin avec 844,54 $\mu\text{g/g}$ pour D1 et 659,78 $\mu\text{g/g}$ pour D3.

L'analyse de variance obtenue, montre que le facteur stress métallique provoque un effet faiblement significatif sur la variation des teneurs relatives en chlorophylle **a** avec une probabilité qui est égale 0,07 ($P \tilde{A} 0,05$).

Tableau 9: les teneurs en chlorophylle **a** des plantes du radis (*Raphanus sativus*) exposées au cuivre.

Dose du cuivre en ppm	Teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g/g}$) ^{NS}
D0 (0 ppm)	875,9 \pm 41,36
D1 (400 ppm)	844,54 \pm 185,93
D2 (800 ppm)	933,92 \pm 153,55
D3 (1000 ppm)	659,78 \pm 121,41

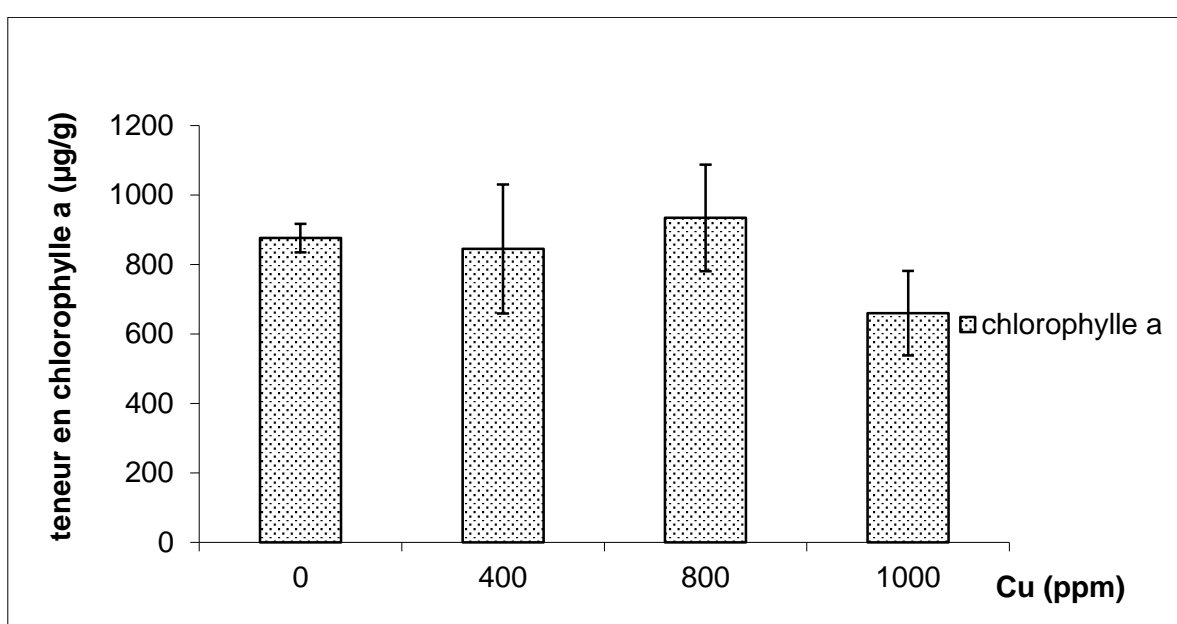


Fig. 33: L'effet du cuivre sur la teneur en chlorophylle **a** des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

V.1.5.2. Teneur en chlorophylle b

Les résultats obtenus (tableau 10) montrent que l'application croissante du cuivre entraîne une augmentation hautement significative des teneurs relatives en chlorophylle **b** avec une probabilité qui est égale 0,006 ($P = 0$) au niveau des plantes qui ont été traitées à différentes concentrations du cuivre (D1, D3), des lors, on a noté une chute de cette dernière au niveau du lot D3 par rapport aux témoins. En effet, la moyenne enregistrée en absence du cuivre (D0) est $400,49 \mu\text{g/g}$ et au niveau D1 et D2, on a enregistré une augmentation estimée respectivement à $401,73 \mu\text{g/g}$ et $313,7 \mu\text{g/g}$.

Tableau 10 : les teneurs en chlorophylle **b** des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

Dose du cuivre en ppm	Teneur en chlorophylle b ($\mu\text{g/g}$) ***
D0 (0 ppm)	$400,49 \pm 15,561^A$
D1 (400 ppm)	$401,73 \pm 50,258^A$
D2 (800 ppm)	$444,44 \pm 53,65^A$
D3 (1000 ppm)	$313,7 \pm 39,877^B$

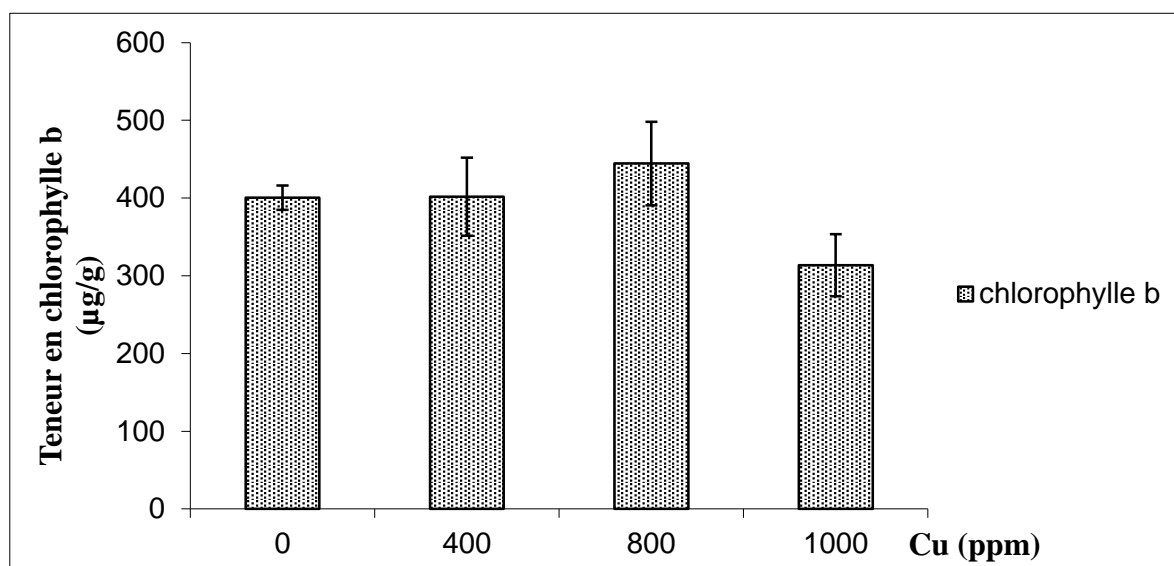


Fig. 34 : L'effet du cuivre sur la teneur en chlorophylle **b** des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

V.1.5.3. Teneur en chlorophylle totale (a+b)

Les résultats obtenus (tableau 11) montrent que l'application croissante du cuivre entraîne une réduction significative des teneurs relatives en chlorophylle totale, sauf qu'au niveau du lot D2 où on a estimé une quantité en Chlorophylle totale à 1378,36 µg/g. Dans les conditions optimales (D0), on a signalé une quantité estimée à 1267,22 µg/g, au niveau des plantes issues des traitements D1 et D3, on constate une légère diminution des teneurs relatives en chlorophylle totale avec 1248,53 µg/g pour D1 et 973,49 µg/g pour D3.

L'examen des résultats obtenus (tableau 11), montre que le facteur stress métallique provoque un effet significatif sur la variation des teneurs relatives en chlorophylle totale (a+b) avec une probabilité qui est égale 0,03 ($P \hat{=} 0,05$).

Tableau 11: Les teneurs en chlorophylle totale des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

Dose du cuivre en ppm	Teneur en chlorophylle totale a+b (µg/g) *
D0 (0 ppm)	1267,22 ± 58,426 ^A
D1 (400 ppm)	1248,53 ± 229,505 ^{AB}
D2 (800 ppm)	1378,36 ± 203,676 ^{AB}
D3 (1000 ppm)	973,49 ± 149,943 ^B

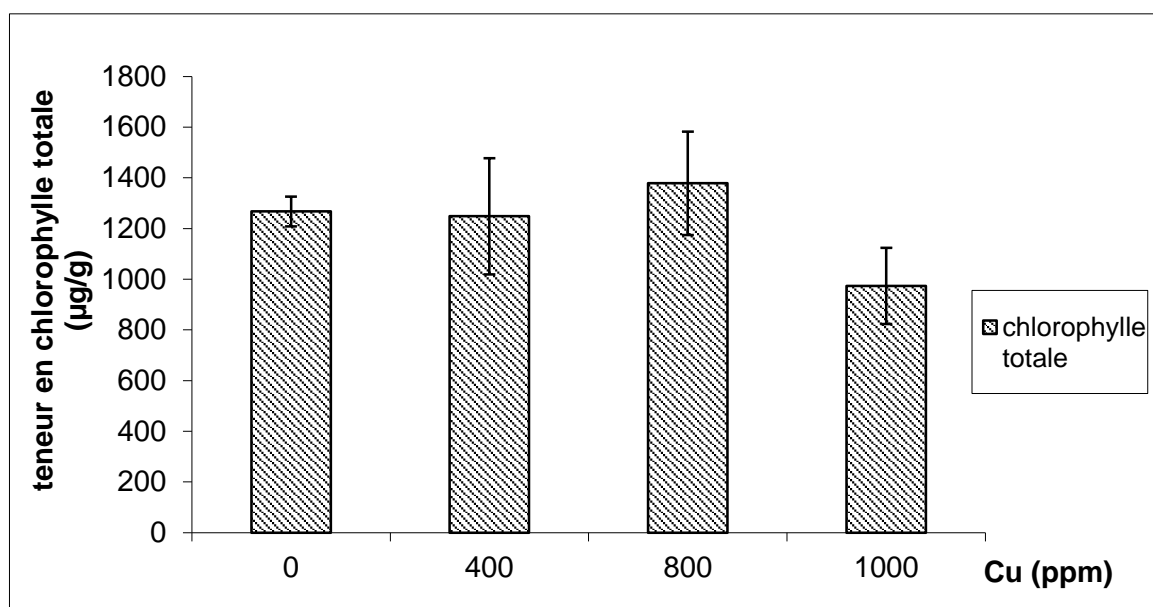


Fig. 35 : l'effet du cuivre sur les teneurs en chlorophylle totale des plantes du radis.

V.2. Analyse des paramètres hydriques

V.2.1. La teneur relative en eau (RWC)

L'étude des résultats obtenus (tableau 12), montre que la teneur relative en eau (RWC) augmente en fonction de l'accroissement des doses du cuivre appliquées.

Dans les conditions optimales, on a enregistré une moyenne estimée à $76,86 \pm 4,8$ %. Au niveau des plantes issues des traitements D1, D2 et D3, on constate une augmentation non significative par rapport au témoin, avec une probabilité qui est égale 0,1 ($P \geq 0,05$), des teneurs relative en eau (RWC) : $81,48 \pm 4,55$ % pour D1, $82,9 \pm 3,85$ % pour D2 et $85,89 \pm 5,82$ % pour D3.

Tableau 12: les valeurs de la teneur relative en eau (%) des plantes du radis exposées au cuivre.

Dose du cuivre en ppm	RWC (%) ^{NS}
D0 (0 ppm)	$76,86 \pm 4,8$
D1 (400 ppm)	$81,48 \pm 4,55$
D2 (800 ppm)	$82,9 \pm 3,85$
D3 (1000 ppm)	$85,89 \pm 5,82$

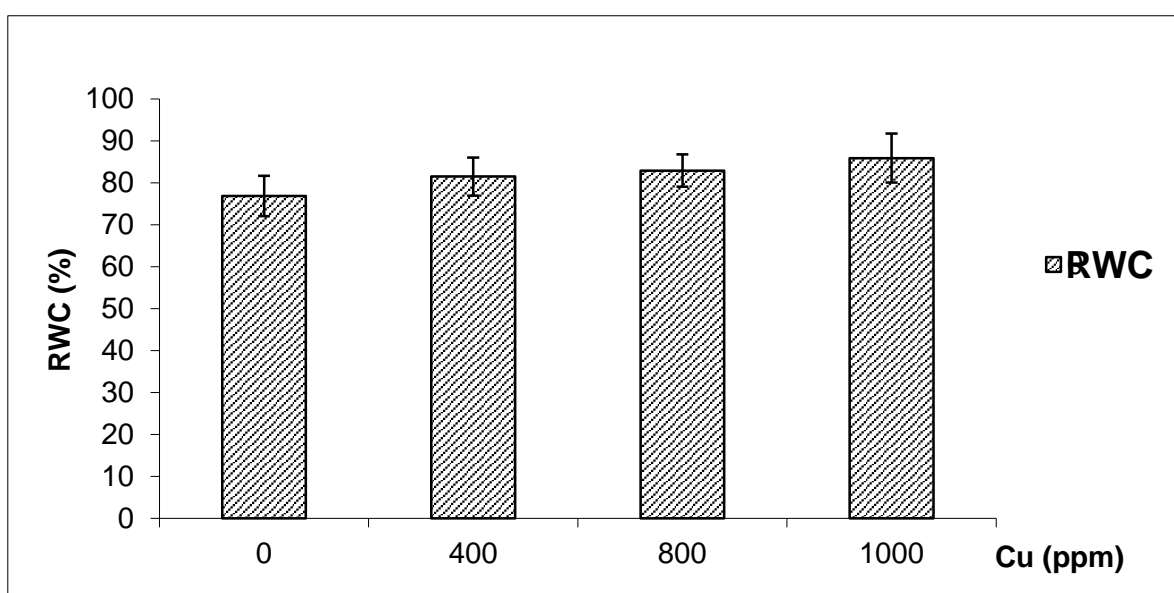


Fig. 36 : L'effet du cuivre sur la teneur relative en eau (RWC) des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

V.2.2. La perte d'eau par transpiration (RWL)

Les résultats obtenus (tableau 13) ; La perte en eau par transpiration (RWL) des plantes du radis (*Raphanus sativus*) est diminué avec l'augmentation des doses du cuivre appliquées.

Dans les conditions optimales et au niveau des plantes témoins, le RWL des plantes est caractérisée par **RWL 30** de $0,027 \pm 0,007 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$, **RWL 60** de $0,021 \pm 0,002 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ et **RWL 120** de $0,016 \pm 0,001 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$. et pour les plantes qui ont été traitées à différentes doses (D1, D2 et D3), l'on constate une diminution de **RWL 30**, **RWL 60** où on a enregistré **RWL 30** : pour D1 $0,026 \pm 0,015 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$, D2 $0,025 \pm 0,021 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ et D3 $0,024 \pm 0,013$, alors que **RWL 60**: pour D1 $0,02 \pm 0,007 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$, D2 $0,019 \pm 0,013$ et D3 $0,018 \pm 0,007 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$.

Bien qu'on a enregistré une stabilisation des valeurs de **RWL120** au niveau des lots D0 et D1 où on a enregistré une valeur estimé à $0,016 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ et au niveau des lots D2 et D3 où la valeur de **RWL 120** atteint à $0,016 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$.

L'examen des résultats obtenus montre que le facteur stress métallique provoque un effet non significatif sur les valeurs de **RWL** avec une probabilité supérieure à 0,05.

Tableau 13: Les valeurs de la perte d'eau par transpiration (RWL) des plantes du radis (*Raphanus sativus*) exposées au cuivre.

Dose du cuivre en ppm	RWL ($\text{g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$) ^{NS}		
	RWL 30	RWL 60	RWL120
D0 (0 ppm)	$0,027 \pm 0,007$	$0,021 \pm 0,002$	$0,016 \pm 0,001$
D1 (400 ppm)	$0,026 \pm 0,015$	$0,02 \pm 0,007$	$0,016 \pm 0,004$
D2 (800 ppm)	$0,025 \pm 0,021$	$0,019 \pm 0,013$	$0,015 \pm 0,007$
D3 (1000 ppm)	$0,024 \pm 0,013$	$0,018 \pm 0,007$	$0,015 \pm 0,004$

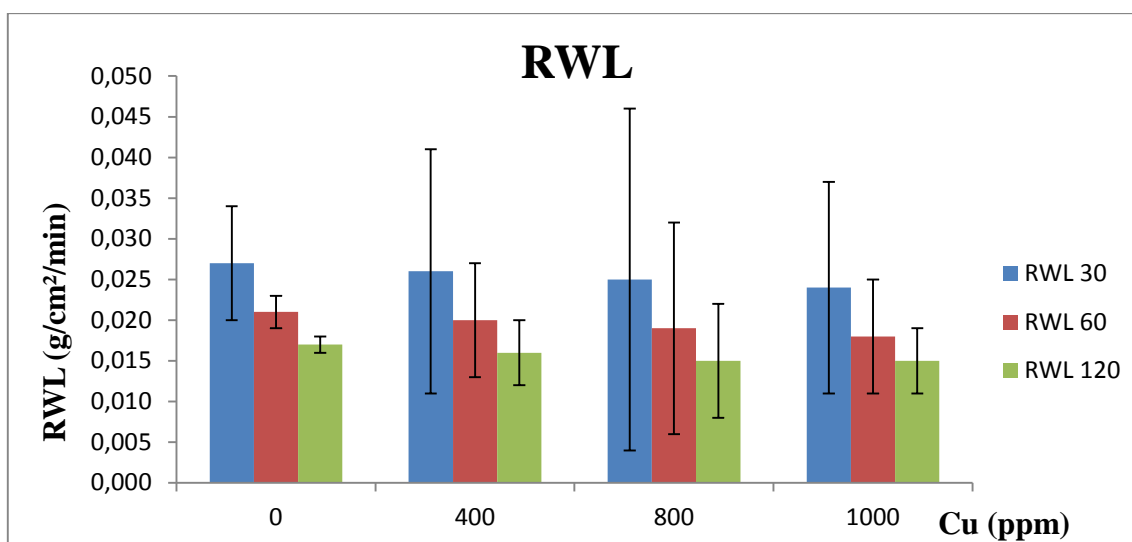


Fig. 37 : L'effet du cuivre sur la perte d'eau par transpiration (RWL) des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

V.3. Analyse des paramètres biochimiques

V.3.1. Dosage des protéines totales

L'effet du cuivre sur la teneur en protéines totales des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

Les résultats moyens (tableau 14), montrent que la teneur en protéines totales diminue légèrement en fonction de l'accroissement des doses du cuivre appliquées.

En absence du cuivre et au niveau des plantes témoins, On a enregistré une teneur moyenne en protéines solubles estimé à $20,016 \pm 6,909$ mg/g Matière Fraiche dans les feuilles des plantes du radis.

En présence du cuivre, la teneur en protéines totales diminue d'une façon non significative avec une probabilité qui est égale 0,608 ($P > 0,05$) dans les plantes qui ont été traitées à différentes concentrations (D1, D2 et D3) par rapport aux témoins, les quantités de la protéine accumulées par les plantes sont évaluées respectivement $19,52 \pm 2,848$ mg/g $19,34 \pm 3,058$ mg/g et $16,25 \pm 2,895$ mg/g Matière Fraiche dans les feuilles des plantes du radis.

Tableau 14 : les teneurs en protéines totales (mg/g) des feuilles des plantes du radis exposées au cuivre.

Dose du cuivre en ppm	Protéines (mg/g) ^{NS}
D0 (0 ppm)	20,016 ± 6,909
D1 (400 ppm)	19,528 ± 2,848
D2 (800 ppm)	19,345 ± 3,058
D3 (1000 ppm)	16,256 ± 2,895

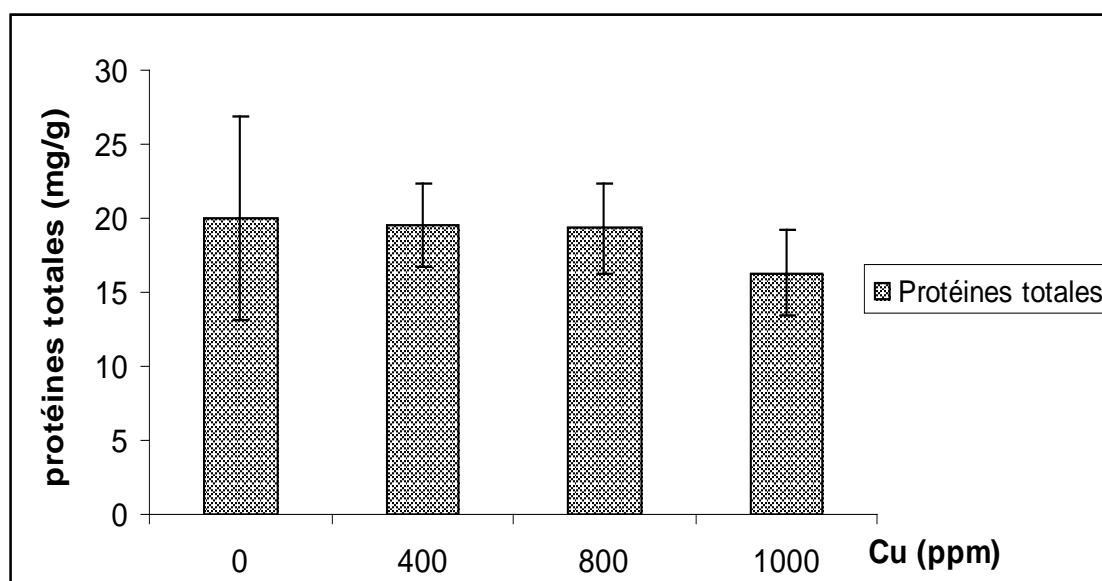


Fig. 38 : L'effet du cuivre sur la teneur en protéines totales des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

CHAPITRE VI : DISCUSSIONS

VI.1. Effet du cuivre au niveau des paramètres physiologiques

Le cuivre est, dans de petites quantités, indispensable pour tous les organismes, mais avec l'augmentation de sa concentration il devient toxique (**Marschner 1995**). Dans le cadre de ce travail, la réponse chez le radis (*Raphanus sativus*) au stress métallique induit par le cuivre a été estimée par l'analyse des paramètres physiologiques. Les résultats du tableau 5, 6, 7 et 8 démontrent une inhibition de la croissance qui résulte une réduction d'élongation foliaire et racinaire, et les masses de matière fraîche et sèche dans les plantes du radis (*Raphanus sativus*), en présence du cuivre à différentes concentrations (400, 800 et 1000 ppm) par rapport aux témoins.

De nombreux travaux font état d'une inhibition de la croissance et réduction d'élongation foliaire et racinaire, et les masses fraîches et sèches, après exposition par le cuivre (**Sun et al., 2010**), ou par d'autres métaux lourds comme l'aluminium dans la pomme de terre et le concombre (**Tabaldi et al., 2007 ; Pereira et al., 2010**) ; cet effet étant fonction de la croissance et de la durée du traitement avec le cuivre ou les métaux lourds.

VI.1.1. Effet du cuivre sur la teneur en pigments chlorophylliens foliaires

La teneur en pigments chlorophylliens est souvent utilisée pour évaluer l'impact de nombreux stress environnementaux. Les résultats des figures 33, 34 et 35 montrent une diminution des teneurs en pigments chlorophylliens des plantes du radis (*Raphanus sativus*) (chlorophylle a, b et totale), en présence du cuivre à différentes concentrations (400 et 1000 ppm) par rapport au témoin sauf pour les plantes qui ont été traitées par le cuivre à une concentration de 800 ppm, où on a enregistré une légère augmentation par rapport aux témoins. Cette diminution indique un stress oxydatif induit par le cuivre, possible due à l'inhibition de l'acide aminolévulinique déshydratase (ALAD), un enzyme clé de la biosynthèse chlorophylle (**Pereria et al., 2006**).

La teneur de la chlorophylle totale est supérieure à la chlorophylle **a**, et cette dernière est supérieure à la chlorophylle **b**.

Des résultats similaires ont montré que la teneur en pigments chlorophylliens est réduite sous l'effet du cuivre dans le radis (Sun et al., 2010), et le nickel dans le blé (Gajewska et sktodowska., 2007), et des métaux lourds comme l'aluminium dans la pomme de terre et le concombre (Tabaldi et al., 2007) ; cet effet en fonction de la concentration et la durée du traitement avec le cuivre ou les métaux lourds.

VI.2. Effet du cuivre au niveau des paramètres hydriques RWC et RWL

La teneur relative en eau (RWC) et la teneur de la perte d'eau par transpiration (RWL) représentent des excellents indicateurs hydriques, pour estimer l'état d'hydratation des plantes dans les conditions de stress ; les résultats obtenus montrent que l'effet du cuivre, se traduit par une faible augmentation de la teneur relative en eau dans les plantes qui ont été traitées à différentes concentrations (400, 800 et 1000 ppm) par rapport aux témoins avec une légère diminution de la teneur en perte d'eau par transpiration (RWL) dans les plantes soumises aux D1, D2 et D3 par rapport aux témoins.

VI.3. Effet du cuivre au niveau des paramètres biochimiques (protéines solubles totaux)

L'exposition aux métaux lourds provoque une production rapide des ERO, en entraînant des modifications variables dans la structure des protéines (Cargnelutti et al., 2006). Ces modifications oxydatives sont caractérisées par la formation des dérivés carbonyles (Shacter et al., 1994). Cependant, certaines plantes peuvent synthétiser de nouvelles protéines contre ce stress (Verma et Dubey., 2003). Les résultats de la figure 38 montrent une diminution de la teneur en protéines dans les plantes du radis (*Raphanus sativus*), en présence du cuivre à différentes concentrations (400, 800 et 1000 ppm) par rapport aux témoins. Cette diminution par le cuivre est due à une oxydation ou dégradation des protéines pour former des carbonyles.

Ces résultats s'accordent avec les résultats qui portent que les métaux lourds provoquent une diminution des protéines après une germination tel que l'aluminium dans le concombre (Pereira et al., 2010), cet effet étant fonction de la concentration et la durée du traitement avec le cuivre ou les métaux lourds.

Conclusion

La phytoremediation constitue une nouvelle technologie permettant de dépolluer les sols contaminés par l'utilisation des plantes. Parmi les différents aspects possibles de cette méthode, figure la phytoextraction basée sur l'absorption et l'accumulation du polluant dans les parties aériennes. Pour être efficace, il est nécessaire de disposer de plantes présentant une biomasse élevée. L'objectif de ce travail a été d'étudier l'utilisation d'une plante « radis (*Raphanus sativus*) » dans la phytoremédiation au niveau des sols pollués par les métaux lourds (cuivre).

L'étude a porté sur l'exposition des plantes du radis (*Raphanus sativus*) au cuivre à des différentes doses (0, 400, 800, 1000 ppm) pendant deux semaines ; cet essai a été élaboré après les cinq semaines de culture.

L'analyse physiologique de l'exposition au cuivre a montré une diminution non significative de l'élongation foliaire ($P = 0,17$), racinaires ($p = 0,6$), les masses de la matière fraîche ($p = 0,38$) et sèche ($p = 0,4$) dans les plantes du radis (*Raphanus sativus*) qui ont été traitées à différentes concentrations du cuivre (400, 800, 1000 ppm) par rapport aux témoins et une diminution de la teneur en pigments chlorophylliens foliaires (chlorophylle a, b et totale) à différentes concentrations du cuivre (400, 1000 ppm). Les teneurs de la chlorophylle **totale** et chlorophylle **a** diminuent de façon significative ($P \leq 0,05$), et Les teneurs de la chlorophylle **b** diminuent d'une façon hautement significative ($P = 0,006$).

L'étude de l'effet du cuivre sur le statut hydrique des plantes, à partir de l'évolution de la teneur relative en eau (RWC) des plantes du radis (*Raphanus sativus*), a montré que l'application du stress métallique (cuivre) entraîne une augmentation non significative ($p = 0,1$) par rapport aux témoins, alors que l'étude des résultats des teneurs de la perte d'eau par transpiration (RWL) des plantes du radis (*Raphanus sativus*) qui ont été traitées à différentes concentration du cuivre , a montré une diminution non significative ($p \leq 0,05$) par rapport aux témoins.

L'analyse biochimique a montré une diminution des protéines totales des plantes traitées à différentes concentrations du cuivre (400, 800 ppm et 1000 ppm) par rapport aux témoins.

Ces paramètres physiologiques, hydriques et biochimiques modifiés suggèrent que le cuivre induit un stress chez le radis (*Raphanus sativus*) au cours de sa croissance par rapport aux témoins, mais le radis possède des mécanismes de protection qui lui permettra de tolérer cet excès en cuivre.

Le cuivre présent dans le sol est absorbé par les racines du radis, et transféré vers les parties aériennes ; les dosages de la concentration du cuivre dans le sol, avant et après l'expérience, dans les racines, les feuilles du radis, permet de déterminer le facteur de translocation sol/plante et racine/feuille, et déterminer le seuil de phytoremédiation par le radis.

Références et bibliographiques

A

- **Adriano, D.C., 2001.** Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. 2nd Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg. 223-232.
- **AFNOR. (1988).**Prélèvement et dosage du plomb dans les aérosols. Paris- la Défense.
- **Alkorta I., Hernandez-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I et 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 Biotechno.3 : 73-90.
- **Alloway B.J. (1995).**Soil processes and the behavior of metals. In heavy Metals in Soil (ed Alloway B.J),pp 11-37. Blackie.
- **Amélie L., Fabrice M (infograhie),, avec la collaboration des chercheurs du CEA Bourguignon J (BIG) et Vavasseur A (BIAM). (2016).** Les défis du CEA Juin 2016 N°208
- **Ann-Peer W., Baxter I.R., Richards E.L., Freeman J.L et Murphy A.S. (2003).** Phytoremediation and hyperaccumulator plants. Int J Phytorem.5 : 89-103.
- **Anuradha S et Rao S.R. (2007).** The effect of brassinosteroids on radish (raphanus sativus L) seedling growing under cadmium stress. Plant soil environ .53 :465-472.
- **Araus j.L., Ferrero A et Vendril P. (1991).** Epidermal conductance in different parts of durum wheat grown under mediterranean condition : the role of epicuticular waxes and stomata. Plants. Cell Environ 14.p 545-558.

B

- **Baker A.J.M., et Brooks., R.R. (1989).** Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery, 1, 81-126.
- **Baker, D.E. (1990).** Copper. In: B.J. Alloway éd., Heavy Metals in Soils, John Wiley & Sons Inc., New York, 151-176.
- **Balsberg Pålsson, A.M. (1989).** Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. Water, Air, Soil Pollut. 47: 287-319.

- **Baize D. (1997).** Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France), INRA Editions, 1997
- **Banuelos, G.S (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.
- **Banuelos G., Meek D.W. (1995).** Selenium uptake by different species in selenium enriched soils. *J. Environ. Qual.* 19 : 468-474.
- **Bargagli R. (1998).** Trace elements in terrestrial plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. Springer. 324 p.
- **Barrs C et Weatherley P.E. (1968).** A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Australian journal of Biological Sciences.* 15: 413-428.
- **Black, H.(1995).** Absorbing possibilities: phytoremediation. *Environmental Health Perspective*, 103, 1106-1108.
- **Buchanan B., Gruissem W., et Ones R.L. (2002).** Biochemistry & molecular and Biology of plants American society of plant physiologists (distribution through Wiley et sons). Monona Drive, Rockville, USA.P 224.
- **Bussler., B. (1981).** Physiological functions and utilization of copper. In: J.F. Loneragan, A.D. Robson and R.D. Graham eds., *Copper in soils and plants, Proceedings of the Golden Jubilee International Symposium on « Copper in Soils and Plants »*, Murdoch University, Perth, Académie Press, Sydney, 213-234.

C

- **Cambier P., Prudent P., Probst A. et Février C. (1999).** Prise en compte de la spéciation en environnement : dynamique physique et chimique des éléments traces métalliques dans les sols. Dans: Association ECRIN éd., *Spéciation des Métaux dans le Sol*, Les cahiers des clubs CRIN, Club CRIN Environnement et Ministère de l'Environnement, Paris, 239-261.
- **Cargnelutti D, Tabaldi LA, Spanevello RM, Jucoski GO, Battisti V, Redin M, Linares CEB, Dressler VL, Flowers EMM, Nicoloso FT, Morsch VM et Schetinger MRC (2006).** Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings *Chemosphere.* 65 : 999- 1006.
- **Chaney R.L., Brown S.L., Yin-Ming L., Angle J.S., Stuczynski T.I., Daniel W.L., Henry C.L., Siebielec G., Malik M., Ryan J.A and Crompton H. (2000).** Progress in risk assessment for soil METals, and in-situ Remediation and phytoextraction of metals

from hazardous contaminated soils. In US-EPA's conference phytoremediation : state of the science conference, boston, MA, May 1-2 2000.

- **Chaney R.L., Malik M., Li Y.M., Brown S.L., Brewer E.P., Angle J.S., Baker A.J.M. (1997).** Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8 : 279-284.
- **Chaignon V. (2001).** Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas de sols viticoles contaminés par les fongicides. Thèse de doctorat, Université Aix-Marseille III, 183 p.
- **Cargnelutti D., Tabaldi L.A., Spanevello R.M., Jucoski G.O., Battisti M., Linares C.E.B., Dressler V.L., Flores E.M.M., Nicoloso F.T., Morsch V.M et Schetinger M.R.C (2006).** Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings chemosphere. 65: 999-1006.
- **Chaudhry T.M., Hayes W.J., Khan A.G et Khoo C.S. (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.
- **Clarke JM et Mc Mclaig T.N. (1982).** Excised- leaf water retention capability as indicator of drought resistance of triticum genotype. *Can.J.Plant Sci.* 62.p 571- 578.
- **Cunningham, S.D et Berti, W.R. (2000).** Phytoextraction and phytostabilization : technical, economic, and regulatory consideration of soil-lead issue. In *phytoremediation of contaminated soil and water* (eds Terry, N. et Banuelos, G.) pp. 359-376. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.

D

- **Dameron C.T et Howe P.D. (1998).** Copper. *Environmental Health Criteria*, 200, World Health Organization, Geneva, P 360.
- **Delas J. (1963).** La toxicité du cuivre dans les sols. *Agrochimica* VII: 257-288.
- **Do Nascimento et Xing C.W.A et Xing B. (2006).** Phytoextraction : A review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Sci Agric (Piracicaba, Braz).* 63 : 299-311.
- **Drouineau, G. et Mazoyer, R. (1962).** Contribution à l'étude de la toxicité du cuivre dans les sols. *Ann. Agron.* 13: 31-53.

- **Duschenkov, V., Kulmar, N., Motton, H et Raskin, I (1995).** Rhizofiltration : the use plants to remove heavy metal from aqueous streams. *Environmental Science and technology*, 29, 1239-1245.

E

- **El-Beltagi H.S, Mohamed A.A et Rashed M.M (2010).** Response of antioxidative enzymes to cadmium stress in leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L). *Not Sci Bio.2 (4) : 76-82.*
- **Etats-Unis. United States Environmental Protection Agency (EPA). (2000).** Introduction to phytoremediation. Cincinnati, OH, 104 p.(EPA/600/R-99/107).
- **Etats-Unis. United States Environmental Protection Agency (EPA) (2012).** A Citizen's to Phytoremediation. 2p (EPA 542-F-12-016).

F

- **Federal Remediation technologies Roundtable (FRTR) (2008).** Remediation technologies Screening Matrix and Reference Guide, version 4.0. *In FRTR.* http://www.frtr.gov/matrix2/top_page.html(page consultée le 15 mai 2013).
- **Forget D. (2004).** Réhabilitation des sols. In ETS. Ecole de technologie supérieure (ETS). https://cours.etsmtl.ca/ctn626/innov_fiche_cemrs_200409_fr.pdf(page consultée le 20 février 2013).
- **Franklin, R.E., Duis, L., Brown, R., Kemp, T. (2005).** Trace element content of selected fertilizers and micronutrient source materials. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 36, 1591-1609.

G

- **Gadd J.M (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.
- **Gajewska E et Sktodowska M (2007).** Relations between tocopherol, chlorophyll and lipid peroxides content in shoot of Ni- treated wheat. *J plant physio.* 164 : 364-366.
- **Garbisu C et Alkorta I. (2001).** Phytoextraction ; a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from environment. *Bioresource technology*, 77, 229-236.
- **Ghosh M et Sing S.P. (2005).** A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its by products. *App Eco Environ Res.* 3 : 1-18.
- **Godin, P.M., Feinberg, M.H., Ducauze, C.J. (1985).** Modelling of soil contamination by airborne lead and cadmium around several emission sources. *Environmental Pollution Series B: Chemical and Physical* 10, 97-114.

- **Gouvernement de Canada. (2008).** Phytoremediation. *In* gouvernement du Canada. BioBasics. [http : //www.biobasics.gc.ca/english/View.asp ?x=742](http://www.biobasics.gc.ca/english/View.asp?x=742) (Page consultée le 10 mars 2013).
- **Gnis (Groupement national interprofessionnel des semences et plants).** Réussir la culture des radis. Dernier mise à jour le 12/05/2017. Mentions légales

H

- **Henry J.R (2000).** An overview of the phytoremediation of lead and mercury.US-EPA, P 51.
- <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Radis&oldid=135257663>.

I

- **Instertate Technology & Regulatory Cooperation Work Group (ITRC). (2009).** phytotechnology technical and regulatory and decision trees, revised. washington d.c., itrc and phytotechnologies teams, 187 p. phyto-3.
- **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 bobo-dioulasso (UPB). BURKINA FASO

K

- **Kabata-Pendias A. (2001).** Trace Elements in Soils and Plants, 3rd edn. CRC Press.
- **Katyal, J.C. et Randhawa, N.S. (1986).** Les oligo-éléments - Bulletin FAO: Engrais et Nutrition végétale. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Rome, P88.
- **Kumar P.B.A.N., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. (1995).** Phytoremediation : the use of plant to remove heavy metals from soil. *Environ. Sci. Technol.* 29 : 1232-1238.).
- **Kärenlampi S., Schat H., Vangronsveld J., Verkleij J.A.C., Van der Lelie D., Mergeay M and Tervahauta A. (2000).** Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. *Environ. Poll.* 107, 225-231.
- **Kumar P.B.A.N., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. (1995).** Phytoremediation : the use of plant to remove heavy metals from soil. *Environ. Sci. Technol.* 29 : 1232-1238.).

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

L

- **Lamb D.T., Ming H., Megharaj M et Naidu R. (2010).** Phytoextraction and accumulation of lead in Australian native vegetation *Arch Environ Contamin Toxicol.* 58 (3) : 613-621.
- **Larcher W. (2003).** *Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups.* 4 éd., Springer-Verlag, Berlin, 513 p.
- **Lindsay W.L. (1979).** *Chemical equilibria in soils.* John Wiley & Sons Inc., New York, P 449.
- **Loneragan J.F. (1981).** Distribution and movement of copper in plants. In: J.F. Loneragan, A.D. Robson and R.D. Graham eds., *Copper in Soils and Plants, Proceedings of the Golden Jubilee International Symposium on « Copper in Soils and Plants »*, Murdoch University, Perth, Academic Press, Sydney, 165-188.
- **Loneragan J.F., Snowball K. et Robson A.D. (1980).** Copper supply in relation to content and redistribution of copper among organs of the wheat plant. *Ann. Bot.* 45: 621 - 632.
- **Loué A. (1993).** *Oligo-Éléments en Agriculture.* SCPA, Nathan, Paris, P 577.

M

- **Marschner H. (1995).** *Mineral Nutrition of Higher Plants.* 2nd éd., Academic Press, London, p 889.
- **Meers E et Tack F. (2004).** The potential of foliar treatments for enhanced phytoextraction of heavy metals contaminated soil. *Remed J.* 14 : 111-123.
- **Montier C., Daroussin J., King D. et Le Bissonnais. Y. (1998).** Cartographie de l'aléa « érosion des sols » en France. Collection Etudes et Travaux n°18, Institut français de l'environnement, INRA, Orléans, p 57.

O

- **Ouzounidou G., Ciamporová M., Moustakas M. et Karataglis S. (1995).** Response of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress- I. Growth, mineral content and ultrastructure of roots. *Environ. Exp. Bot.* 35: 167-176.

P

- **Pereira LB, Mazzanti CMA, Gonçalves JF, Cargnelutti D, Tabaldi LA, Becker AG, Calgaroto NS, Farias JG, Battisti V, Bohrer D, Nicoloso FT, Morsch VM et**

Schetinger MRC (2010). Aluminium-induced oxidative stress in cucumber. *Plant Physio Biochem.* 1-7.

- **Pereira LB, Tabaldi LA, Gonçalves JF, Jucoski JO, Pauletto MM, Weis SN, Nicoloso FT, Borthier D, Rocha JBT et Schetinger MRC (2006).** Effect of aluminium on γ -aminoluvulinic acid dehydratase (ALAD) and the development of cucumber (*Cucumis sativus*). *Environ Exp Bot.* 57 : 106- 115.
- **Pilon-Smits E. (2005).** Phytoextraction. *Ann Rev Plants Bio.* 56 : 15-39.
- **Pivetz, B.E. (2001).** Phytoremediation of Contaminated Soil and groundwater at hazardous waste sites. *Ground Water Issue*, United States Environmental Protection Agency, Office of Research and Development and Office of Soil Waste and Emergency Response, EPA/540/S-01/500, 36 p. [En ligne] http://clu.in.org/download/remed/epa_540_s01_500.pdf (Page consultée le 16 janvier 2004).
- **Punz W.F. et Sieghardt H. (1993).** The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. *Environ. Exp. Bot.* 33: 85-98.

Q

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

R

- **Raskin, I et Ensley, B.d. (2000).** Phytoremediation of toxic metals using to clesn up the environment. Wiley New-york.
- **Repellini F. (2000).** Phytoremediation des sols pollués par les métaux lourds. DESS ingénierie documentaire. Université Claude Bernard Lyon, France. P 12.
- **Reuter D. J. and Robinson J. B. (1997).** -Plant analysis : an interpretation manual.- CSIRO publishing, Australia, 572 p.
- **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.

S

- **Saifullah E., Meers Qadir M., Caritat P., Tack F.M.G., Du Laing G. et Zia M.H. (2009).** EDTA- assisted Pb phytoextraction. *Chemosphere.* 74 : 1279-1291.
- **Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, N.P.B.A., Dushenkov, V., Ensley, B.D., Chet, I et Raskin, I (1995).** Phytoremediation : A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Nature Biotechnology*, 13, 468-474.

- **Scippa G.,** Di Michel M., Onelli E., Patrignani G., Chitante R et Bray E. (2004). The histone- like protein HI- S and the reponse of tomate leaves to water deficit. *Exp. Bot.* 55: 99- 100.
- **Schulte E.E. et Kelling K.A. (1999).** Soil land applied copper. *Understanding Plant Nutrients* n°A2527.
- **Sezgin, N., Ozcan, H.K., Demir, G., Nemlioglu, S., Bayat, C. 2004.** Determination of heavy metal concentrations in street dusts in Istanbul E-5 highway. *Environment International* 29, 979-985.
- **Shacter E, Willians JA, Lim M et Levine RL (1994).** Differential susceptibility of plasma proteins to oxidative modification : Examination by western blot immunoassay. *Free Rad Bio Med.* 17 : 429- 437.
- **Shah K. et Nongkynrih J.M. (2007).** Metal hyperaccumulation and bioremediation *Bio Plant.* 51 (4) : 618-634.
- **Shahid M., Pinelli E., Pourrut B., Silvestre J. et 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.
- **Sing B, Sharma R et Garg B (2003).** Kinetics and molecular modeling of biologically active glutathione complexes with lead (II) ions. *J thermal analysis Calorimetry* 84 (3) : 593-600.
- **Sloof W., Cleven R.F.M.J., Janus J.A. et Ros J.P.M. 1989.** Integrated criteria document copper. Bilthoven, The Netherlands, National Institute of Public Health and Environment Protection, report n° 758474009, P147.
- **Smits E.A.H.P et Freeman J.L. (2006).** Environnemental cleanup using plants biotechnological advances and ecological consideration. *Front Eco Environ.* 4 : 203-210.
- **Stevenson F.J. et Fitch A. (1981).** Reaction with organic matter. In: J.F. Loneragan, A.D. Robson and R.D. Graham eds., *Copper in Soils and Plants*, Proceedings of the Golden Jubilee International Symposium on « Copper in Soils and Plants », Murdoch University, Perth, Académie Press, Sydney, 69-95.
- **Sun B.Y., Kan S.H., Zhang Y.Z., Deng S.H., Wu J., Yuan H., Qi H., Yang G., Li l., Zhang X.H., Xiao H., Wang Y.J., Peng H. et li Y.W. (2010).** Certain antioxidant enzymes and lipid peroxidation of radish (*Raphanus sativus L.*) as early warning biomarkers of soil copper exposure. *J Haz Mat.* 183: 833-383

- **Surarla, S., Medina, V.F. et Mc Mutcheon, S C. (2002).** Phytoremediation : an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering*, 18, 647-658.

T

- **Tabaldi LA, Nicoloso FT, Castro GY, Cargnelutti D, Gonçalves JF, Rauber R, Skrebsky EC, Schetinger MRC, Morsh VM et Bisognin DA (2007).** Physiological and oxidative stress responses of four potato clones to aluminium in nutrient solution. *Braz J plant physio.* 19 (3) : 211-222.
- **Tekli T., Hancock J.T., Engler M., Paradikovi N., Cesar V., Lepeduš H., Štolfa I et 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.
- **Tela b. (2011).** Projet de numérisation de la flore de L'Abbé Coste. *Raphanus sativus* L, la flore électronique de Tela Botanica.

V

- **Verma S et Dubey RS (2010).** Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Bio Plant.* 44 (1) : 117-123.
- **Vishnoi S.R et Srivastava P.N.(2008).** Phytoremediation : green environmental clean. In *Proceeding of taal 2007: the 12th World Lake Conference*, (p.1016-1021), Jaipur, 2008.

Z

- **Zayed A., Lytle C.M et Terry N. (1998).** Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Plant.* 206 : 284-292.
- **Zheng L.J, Liu X.M, Lutz-Meindl U. et 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.
- **Zinati G.M., Li Y. et Bryan H.H. (2001).** Accumulation and fractionation of copper, iron, manganese and zinc in calcareous soils amended with composts. *J. Environ. Sci. Health B36:* 229-243.

Tableau 1: analyse de variance de la longueur des parties souterraines des plantes du radis (Raphanus sativus)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	438,084	15	29,206				
VAR.FACTEUR 1	143,792	3	47,931	1,954	0,17402		
VAR.RESIDUELLE 1	294,293	12	24,524			4,952	11,28%

Tableau 2: analyse de variance de la longueur des parties souterraines des plantes du radis (Raphanus sativus)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	354,999	15	23,667				
VAR.FACTEUR 1	42,787	3	14,262	0,548	0,66172		
VAR.RESIDUELLE 1	312,213	12	26,018			5,101	17,44%

Tableau 3: analyse de variance de la matière fraîche (MF) des plantes du radis (Raphanus sativus)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	11548,62	15	769,908				
VAR.FACTEUR 1	4422,006	3	1474,002	2,482	0,1101		
VAR.RESIDUELLE 1	7126,613	12	593,885			24,37	9,51%

Tableau 4: analyse de variance de la matière sèche (MS) des plantes du radis (Raphanus sativus).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	218,454	15	14,564				
VAR.FACTEUR 1	45,712	3	15,237	1,058	0,40387		
VAR.RESIDUELLE 1	172,743	12	14,395			3,794	18,13%

Tableau 5: Analyse de variance de la teneur relative en eau (RWC) du radis (Raphanus sativus).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	446,847	15	29,79				
VAR.FACTEUR 1	169,619	3	56,54	2,447	0,11336		
VAR.RESIDUELLE 1	277,228	12	23,102			4,806	5,88%

Tableau 6: Analyse de variance de la perte d'eau par transpiration (**RWL 30**) des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0,003	15	0				
VAR.FACTEUR 1	0	3	0	0,042	0,98769		
VAR.RESIDUELLE 1	0,003	12	0			0,015	58,65%

Tableau 7: Analyse de variance de la perte d'eau par transpiration (**RWL 60**) des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0,001	15	0				
VAR.FACTEUR 1	0	3	0	0,065	0,97683		
VAR.RESIDUELLE 1	0,001	12	0			0,008	43,06%

Tableau 8: Analyse de variance de la perte d'eau par transpiration (**RWL 120**) des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0	15	0				
VAR.FACTEUR 1	0	3	0	0,176	0,91002		
VAR.RESIDUELLE 1	0	12	0			0,005	29,10%

Tableau 9: Analyse de variance de la chlorophylle **a** des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	392116,6	15	26141,11				
VAR.FACTEUR 1	168328,3	3	56109,42	3,009	0,07177		
VAR.RESIDUELLE 1	223788,3	12	18649,03			136,561	16,48%

Tableau 10: Analyse de variance de la chlorophylle **b** des plantes du radis (*Raphanus sativus*).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	57841,79	15	3856,119				
VAR.FACTEUR 1	36131,57	3	12043,86	6,657	0,00688		
VAR.RESIDUELLE 1	21710,22	12	1809,185			42,535	10,90%

Tableau 11 : Comparaison entre les moyennes et groupes homogène des teneurs en chlorophylle **b**.

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
3.0	F1n3	444,441	A	
2.0	F1n2	401,728	A	
1.0	F1n1	400,49	A	
4.0	F1n4	313,701		B

Tableau 12: Analyse de variance de la chlorophylle totale (**a+ b**) des plantes du radis (Raphanus sativus).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	715562,1	15	47704,14				
VAR.FACTEUR 1	355403,1	3	118467,7	3,947	0,03575		
VAR.RESIDUELLE 1	360158,9	12	30013,24			173,243	14,24%

Tableau 13 : Comparaison entre les moyennes et groupes homogène des teneurs en chlorophylle totale (**a+b**).

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
3.0	F1n3	1378,362	A	
1.0	F1n1	1267,219	A	B
2.0	F1n2	1248,526	A	B
4.0	F1n4	973,49		B

Tableau 14: analyse de variance des protéines totales des plantes du radis (Raphanus sativus).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	255,836	15	17,056				
VAR.FACTEUR 1	35,112	3	11,704	0,636	0,60869		
VAR.RESIDUELLE 1	220,724	12	18,394			4,289	22,83%