

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

MAKHLOUF Imane

HAMOUDA Fatima

Pour l'obtention du diplôme de

Master en biologie

Spécialité: Biodiversité et environnement

THÈME

**Effet du nitrate d'uranyle sur la germination
des graines du *Cléome amblyocarpa***

Soutenue en juillet 2019 devant le Jury

REGUIEG YSSAAD H.A Pr

Président

Université de Mostaganem

ARBAOUI M. Dr

Encadreur

Université de Mostaganem

MOSTARI A. MAA

Examineur

Université de Mostaganem

BENNAOUM A. Doctorante

Co-encadreur

Université de Mostaganem

Année universitaire 2018/2019

Résumé

Les éléments traces métalliques sont présents naturellement à l'état de traces dans le sol. En effet, ils sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités très faibles. Ainsi, il s'avère utile d'étudier l'impact de la pollution par les métaux lourds sur les plantes cultivées. Dans ce contexte, nous avons étudié l'effet de l'uranium sous forme de nitrate d'uranyle hexa hydraté $[UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$ sur le taux de germination et la croissance des racicules et des tigelles du *Cleome amblyocarpa*. Les graines de *Cleome amblyocarpa* sont déposées dans des boîtes de pétri (20 graines/boîte), puis, elles sont mises à germer dans une étuve à 26°C pendant 15 jours. Le stress métallique est composé de la solution témoin (eau distillée) accompagnée de plusieurs concentrations (50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm de nitrate d'uranyle hexa hydraté). Les expérimentations pour chacun des lots sont répétées 5 fois. Les résultats obtenus montrent que le taux de germination augmente sous l'effet de 100, 150, 200 et 250 ppm, en outre, la longueur des parties aériennes des plantules diminue sous l'effet de 50, 100, 200 et 300 ppm, cependant, l'élongation des parties racinaires est stimulée avec 50, 100, 200 et 250 ppm par rapport au témoin.

Mots clés : *Cleome amblyocarpa*, germination, nitrate d'uranyle, stress métallique, phytoremédiation.

Abstract

Metal trace elements are naturally present as traces in the soil. Indeed, they are present in all compartments of the environment, but in general in very small quantities. Thus, it is useful to study the impact of heavy metal pollution on cultivated plants. In this context, we investigated the effect of uranium in the form of uranyl hexahydrate nitrate [UO₂ (NO₃)₂·6H₂O] on the germination rate and growth of radicles and tigelles of *Cleome amblyocarpa*. The seeds of *Cleome amblyocarpa* are deposited in petri dishes (20 seeds / dish), then they are germinated in an oven at 26 ° C for 15 days. The metal stress is composed of the control solution (distilled water) accompanied by several concentrations (50, 100, 150, 200, 250 and 300 ppm of uranyl hexa hydrate nitrate). Experiments for each batch are repeated 5 times. The results obtained show that the germination rate increases under the effect of 100, 150, 200 and 250 ppm, moreover, the length of the aerial parts of the seedlings decreases under the effect of 50, 100, 200 and 300 ppm, however the elongation of the root parts is stimulated with 50, 100, 200 and 250 ppm relative to the control.

Key words: *Cleome amblyocarpa*, germination, uranyl nitrate, metallic stress, phytoremediation.

المخلص

العناصر النزرة المعدنية موجودة بشكل طبيعي كآثار في التربة. في الواقع ، فهي موجودة في جميع أجزاء البيئة ، ولكن بشكل عام بكميات صغيرة جدا. وبالتالي ، من المفيد دراسة تأثير تلوث المعادن الثقيلة على النباتات المزروعة. في هذا السياق ، درسنا تأثير اليورانيوم في شكل نترات هكساهديرات اليورانيل [UO₂ (NO₃) 2-6H₂O] على معدل إنبات ونمو الجذور و السيقان من *Cleome amblyocarpa*. تودع بذور *Cleome amblyocarpa* في أطباق بتري (20 حبة / طبق)، ثم تنبت في فرن عند 26 درجة مئوية لمدة 15 يومًا. يتكون الإجهاد المعدني من محلول الشاهد (الماء المقطر) مصحوبًا بعدة تراكيز (50 ، 100 ، 150 ، 200 ، 250 و 300 جزء في المليون من نترات سداسي هيدرات اليورانيل). تتكرر التجارب لكل دفعة 5 مرات. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن معدل الإنبات يزداد تحت تأثير 100 و 150 و 200 و 250 جزء في المليون ، علاوة على ذلك ، فإن طول الأجزاء الهوائية من الشتلات يتناقص تحت تأثير 50 و 100 و 200 و 300 جزء في المليون يتم تحفيز استطالة أجزاء الجذر مع 50 ، 100 ، 200 و 250 جزء في المليون نسبة إلى الشاهد.

الكلمات المفتاحية: *Cleome amblyocarpa* ، الإنبات ، نترات اليورانيل ، الإجهاد المعدني.

Remerciements

Dieu merci de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et de nous avoir guidé vers le droit chemin tout au long de nos études et pour bien réaliser ce travail.

Nous exprimons nos remerciements très particuliers et notre gratitude à notre promoteur Dr ARBAOUI Mohamed, pour les conseils et les orientations afin d'achever ce mémoire. Nous lui souhaitons bonheur et santé.

Nos remerciements vont également à notre Prof. REGUIEG YSSAAD Houcine Abdelhakim qui nous a proposé ce thème et nous a ouvert son laboratoire pour réaliser ce travail.

C'est un immense honneur de présider ce jury et d'évaluer ce travail.

Nous remercions vivement M^{me} MOSTARI A. qui a accepté d'évaluer ce travail.

Un profond remerciement à M^{me} BENNAOUM Aicha, pour son aide et ses précieux conseils durant la réalisation de notre travail.

Nous remercions aussi M^{elle} HAMADE Hanane.

Merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ainsi que ceux qui nous ont encouragé et soutenu à tout moment; qu'ils trouvent ici le témoignage de notre profonde gratitude.

Enfin, nous remercions chaleureusement nos familles et nos proches, particulièrement nos parents pour leur soutien moral et matériel qu'ils nous ont apporté tout au long de nos études.

Dédicaces

Je dédie ce travail

À l'âme de mon grand-père Mhamed kamel que Dieu lui bénisse.

*À Ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une
Éducation digne de confiance Ce qui a attendu avec patience Les
fruits d'une bonne éducation A celle qui m'a donné la vie, le symbole
de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite à ma
mère*

*À mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes
les années d'études, et qui a veillé tout au long de ma vie à
m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger. Que dieu les
gardes et les protèges.*

À mes adorables frères : Houssame edine et Mostafa amine.

À mes chères grand mères : Fatma et Aliya.

A mon plus proche ami Djamila, qui était toujours à mes côtés.

À mon binôme et amie Fatima et sa famille.

À tous ceux qui me sont chères.

À tous ceux qui m'aiment.

À tous ceux que j'aime.

À toute la promotion Biodiversité et environnement 2018-2019.

*A Tous les enseignants qui m'ont suivi tout au long de mon parcours
éducatif.*

Imane

Dédicaces

Je dédie ce travail

*A Ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une
Éducation digne de confiance Ce qui a attendu avec patience Les
fruits d'une bonne éducation A celle qui m'a donné la vie, le symbole de
tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite à ma
mère*

*A mon père, école de mon enfance, qui à été mon ombre durant toutes
les années d'études, et qui à veillé tout au long de ma vie à
m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger...*

A mes chères adorables sœurs : Achoura ,Nour el houda.

A mon frère : Foufik.

*Mes chères Amies : Safaa , Zineh, Fairouz, Khadidja, Fatima el
zahraa et Nadia.*

A mon cher oncle : Youcef.

A Zahreddine, qui était toujours à mes côtés.

A mon binôme et amie Imane et sa famille.

A tous ceux qui me sont chères.

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime.

A toute la promotion Biodiversité et environnement 2018-2019.

*A Tous les enseignants qui m'ont suivi tout au long de mon parcours
éducatif.*

Fatima

LIST DES ABREVIATIONS

ABA	Acide abscissique
APG II	Angiosperm Phylogeny Group
As	Arsenic
ATPase	Adénosine triphosphatases
B	Bore
Bombes A	Bombes atomiques
Bombes H	Bombes à hydrogène
Bq/g	Becquerel par gramme
Br	Brome
CEC_R	Capacité d'échange cationique
Cm	Centimètre
Cmol (+)/kg	Centimole de charge positive par kilogramme.
°C	Degré Celsius
C	<i>Cleome</i>
Cd	Cadmium
Cl	Chlore
Co	Cobalt
Cr	Chrome
Cu	Cuivre
EC₅₀	Concentration efficace médiane
ETM	Eléments Trace Métallique
Fe	Fer
F	Fluor
GA3	Acide gibbérellique
g/cm³	Gramme par centimètre cube
g/t	Gramme par ton
H	Heur
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
Hg	Mercure
⁴₂He	Noyaud'hélium
H₂O	Eau
I	Iode
Li	lithium
LNA	Acide lactame nonanoïque
MeV	Mégaélectronvolt
µg/g	Microgramme par gramme
µg/L	Microgramme par litre
mg/L	Milligramme par litre
mg/L	Milligramme par litre
mg/kg	Milligramme par kilogramme
µM	Micromètre

Mm	Millimètre
Mn	Manganèse
Mo	Molybdène
Na	Sodium
Ni	Nickel
O₂	Oxygène
OH⁻	Ion hydroxyde
P	Probabilité
Pb	Plomb
PH	Potentiel Hydrogène.
Ppm	Partie par million
%	Pour cent (pourcentage)
Rb	Rubidium
RCOOH⁻	Acidecarboxylique
R-OH	Alcool
Se	Sélénium
Si	Silicium
Sr	Strontium
Ti	Thallium
t/km²	Tonne par kilomètre carré
U	Uranium
U₃O_x	Forme d'oxydes
UO₂(s)	Dioxyde d'uranium
U-Pu	Oxydes mixtes
UO₂²⁺	Ion uranyle
V	Vanadium
Z	Numéro atomique
Zn	Zinc

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Tableau périodique des éléments de Mendeleïev.....	3
Tableau 2: Classification des oligo-éléments et des contaminants stricts chez l'homme et chez les plantes supérieures.....	4
Tableau 3 : Principales propriétés physico-chimiques de l'uranium.....	13
Tableau 4: Données nucléaires des isotopes naturels de l'uranium.....	16
Tableau5: Caractéristiques des différentes techniques utilisées en phytoremédiation.....	26

LISTE DES FIGURES

Fig.1: Origines des métaux lourds dans le sol.....	5
Fig.2: Divers objets en verre contenant de l'uranium, éclairés sous lumière ultraviolette.....	7
Fig.3: Les principales techniques de phytoremédiation.....	22
Fig.4: Processus de la phytodégradation des contaminants au niveau du sol.....	23
Fig.5: Représentation schématique du processus de phytoextraction des métaux lourds.....	24
Fig.6: Processus de la phytostabilisation des contaminants au niveau du sol.....	25
Fig. 7: Effets de l'implantation d'un couvert végétal sur un sol contaminé.....	28
Fig.8 : Les étapes de la germination d'une graine d'après	31
Fig. 9: Les différents facteurs impliqués dans la qualité germinative des semences....	31
Fig.10: les feuilles de <i>cleome amblyocarpa</i>	36
Fig.11: les feuilles de <i>cleome amblyocarpa</i>	37
Fig.12 : les fruits du <i>cleome amblyocarpa</i>	37
Fig.13: Arbre de phylogénie botanique du genre <i>Cleome</i>	38
Fig.14 : Laboratoire de la biodiversité et conservation des eaux et des sols (Université de Mostaganem).....	41
Fig. 15: Localisation de l'université de Mostaganem-Site 2.....	42
Fig.16: graines de <i>Cleome amblyocarpa</i>	42
Fig.17: méthodes de traitement des graines de <i>Cleome ambryocarpa</i>	43
Fig.18 : Dispositif expérimental.....	44
Fig.19 : Effet du Nitrate d'uranyle (0, 50,100, 150, 200,250 et 300 ppm) sur le taux de germination des graines de <i>Cleomeamblyocarpa</i>	46

Fig.20 :Effet du Nitrate d'uranyle(0, 50,10 0, 150, 200,250 et 300 ppm) sur la cinétique du taux de germination des graines de <i>Cleomeamblyocarpa</i>	48
Fig.21 : Effet du Nitrate d'uranyle (0, 50, 100, 150, 200,250 et 300 ppm) sur la longueur +aérienne des plantules de <i>Cleomeamblyocarpa</i>	49
Fig.22 : Effet du Nitrate d'uranyle(0, 50, 100, 150, 200,250 et 300 ppm) sur la cinétique de l'élongation aérienne des graines de <i>Cleomeamblyocarpa</i>	50
Fig.23 : Effet du Nitrate d'uranyle (0, 50, 100, 150, 200,250 et 300 ppm) sur la longueur des racicules des plantules de <i>Cleomeamblyocarpa</i>	51
Fig.24 :Effet du Nitrate d'uranyle(0, 50, 100, 150, 200,250 et 300 ppm) sur la cinétique de la longueur des racicules des graines de <i>Cleome amblyocarpa</i>	52

Sommaire

Introduction générale	01
-----------------------	----

Chapitre I : 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	06
I.4. Pollution par l'uranium.....	06
I.4.1. Etat de l'art de l'uranium.....	06
I.4.2. L'uranium.....	07
I.4.3. Les sources d'uranium.....	09
I.5. Production et utilisations.....	11
I.5.1. Principaux minerais contenant de l'uranium.....	11
I.5.2. Principales utilisations de l'uranium.....	12
I.6. Propriétés physico-chimiques de l'uranium.....	13
I.6.1. Propriétés physiques de l'uranium.....	13
I.6.2. Propriétés chimiques de l'uranium.....	14
I.6.3. Propriétés nucléaires.....	15
I.6.4. Propriétés mécaniques.....	16
I.7. L'élément uranium dans l'environnement : occurrence et comportement.....	16
I.7.1. L'uranium dans les roches	17
I.7.2. Origines de sa redistribution dans l'environnement.....	17
I.7.3. L'uranium dans les écosystèmes terrestres	18
I.7.3.1. L'uranium dans les sols.....	18
I.7.3.2. L'uranium dans les organismes	19
I.7.3.2.1. Les végétaux.....	19
I.7.3.2.2. Les animaux.....	19
I.7.4. L'uranium dans les écosystèmes aquatiques.....	20
1.7.4.1 - L'uranium dans la colonne d'eau.....	20
1.7.4.2 - L'uranium dans les sédiments.....	20

Chapitre II : Phytoremédiation

II.1. nécessité de la dépollution.....	21
II.2. Généralité sur la phytoremédiation	21

II.3. Définition de la phytoremédiation	21
II.4. Historique de la phytoremédiation	22
II.5. Techniques de la phytoremédiation.....	22
II.5.1. Phytodégradation	23
II.5.2. Rhizofiltration	23
II.5.3. Phytoextraction	24
II.5.4. Phytostabilisation	24
II. 5.5.la phytovolatilisation	25
II.6. Avantages et Limites de la phytoremédiation	26
II.7. Implantation d'espèces tolérantes (Pourquoi restaurer le couvert végétal ?).....	27

Chapitre III : Germination

III.1. Concept et processus de la germination	29
III.2. Morphologie et physiologie de la germination	29
III.2.1.Définition	29
III.2.2.Morphologie de la germination	30
III.2.3.Physiologie de la germination	30
III.3. Phases de la germination	30
III.4. Facteurs affectant la germination et la vigueur des grains	31
III.4.1. La température	31
III.4.2. La lumière	32
III.4.3. L'humidité	32
III.4.4. L'acide abscissique	32
III.4.5. L'âge des grains.....	32
III.4.6. La taille des grains.....	33
III.5. Différents obstacles de la germination.....	33
III.5.1.Inhibitions tégumentaires	33
III.5.2.Dormances embryonnaires	33
III.6. Procédés d'amélioration de la capacité germinative	34
III.6.1.Traitements humides	34
III.6.2.Traitements à sec.....	34

Chapitre IV : Généralités sur l'espèce expérimentée le cleome

IV.1. Description	36
IV.2. Origine	37
IV.3. Classification botanique et systématique du Cléome amblyocarpa	38

IV.3.1.Classification systématique	38
IV.3.2.PROPRIETES BIOLOGIQUES DU GENRE <i>CLEOME</i>	38
IV.3.2.1.USAGES EN MEDECINE TRADITIONNELLE	38
IV.3.2.2.ACTIVITES BIOLOGIQUES	39
IV.3.2.2.1.Antimicrobienne	39
IV.3.2.2.2.Analgésique	39
IV.3.2.2.3.Anti-inflammatoire	40
IV.3.2.2 .4.Anti-émétique	40
IV.3.2.2 .5.Hépatoprotectrice	40

Chapitre V : Matériels et méthodes

V.1.Objectif.....	41
V.2. Site expérimenta.....	41
V.3. Matériel végétal	42
V.4. Traitement des grains	43
V.5. Germination des grains.....	43
V.6. Paramètres mesures.....	44
V.6.1. Taux de germination final.....	44
V.6.2. Cinétique de germination.....	45
V.6.3. Longueur de radicule et tigelle	45
V.6.4. Analyses statistiques.....	45

Chapitre VI : Résultats et discussions

VI.1. Effet du Nitrate d'uranyle sur le taux de germination des graines de <i>Cleome Amblyocarpa</i>	46
VI.2. Effet du Nitrate d'uranyle sur la cinétique du taux de germination des graines de <i>Cleome amblyocarpa</i>	46
VI.3. Effet du Nitrate d'uranyle sur la longueur aérienne des plantules de <i>Cleome Amblyocarpa</i>	48
VI.4. Effet du Nitrate d'uranyle sur la cinétique de l'élongation aérienne des graines de <i>Cleome amblyocarpa</i>	49
VI.5. Effet du Nitrate d'uranyle sur la longueur des racicules des plantules de <i>Cleome Amblyocarpa</i>	50
VI.6. Effet du Nitrate d'uranyle sur la cinétique de la longueur des racicules des graines de <i>Cleomeamblyocarpa</i>	51
VI.7.Discussion.....	53
Conclusion.....	56
Référence et bibliographique.....	57

Annexes

Introduction

Les Eléments Traces Métalliques sont présents naturellement dans les sols. Depuis le siècle dernier, le développement de l'activité industrielle (industries métallurgiques et chimiques) et agricole (pesticides, engrais, ...) a entraîné des apports parfois intensifs de ces éléments qui deviennent des polluants pour l'environnement. Même à faibles concentrations, ils peuvent constituer un sérieux problème de santé publique du fait de leur toxicité et de leur caractère bio-accumulatif (Sterckemant et *al.*, 2008).

Par ailleurs, les polluants peuvent pénétrer dans le sol par voie aérienne (déposition sèche), en utilisant l'eau comme vecteur de transport (précipitation, eau de surface, déposition humide) ou encore via des solides organiques tels les boues d'assainissement, le compost, les fertilisants et les pesticides (Aoun, 2009). Ainsi, les problèmes posés par la dispersion des polluants dans l'environnement ont suscité l'intérêt de la communauté scientifique depuis maintenant de nombreuses décennies.

Effectivement, la prise de conscience de la nécessité de préserver les écosystèmes terrestres et aquatiques a fait émerger certaines questions, notamment celles du devenir de ces polluants dans l'environnement ainsi que de leurs effets sur les communautés d'êtres vivants (Laurette, 2011). Parmi les contaminants majeurs de l'environnement, certains métaux lourds posent de sérieux problèmes écologiques, tant par le caractère ubiquiste de leur présence au sein de la biosphère que par leur forte rémanence et leur toxicité élevée.

L'uranium est doté d'une activité radioactive qui se manifeste pour l'ensemble de ses isotopes sous la forme d'émission de particules (Barillet, 2007). Les caractéristiques toxicologiques et écotoxicologiques de cet élément seront exposées, permettant de définir les pistes de recherche ayant conduit à la réalisation du présent travail.

Cependant, la phytoremédiation est une technique applicable à une variété de contaminants, incluant les hydrocarbures pétroliers, les solvants chlorés, les métaux, les radionucléides, les nutriments, le pentachlorophénol et les HAP (Vishnoi et Srivastava, 2008). Cette technologie utilise les plantes pour réduire, enlever, dégrader, ou immobiliser les contaminants présents dans les sols, les boues, les sédiments, les eaux de surface, les eaux souterraines ainsi que les eaux usées.

La germination d'une graine est définie comme étant la somme des événements qui commencent avec l'imbibition et se termine par l'émergence d'une partie de l'embryon, généralement la racine, à travers les tissus qui l'entourent (Bewley et Black, 1994). Le *Cleome Amblyocarpa* tolère assez bien la sécheresse et son système racinaire puissant sait aller chercher l'eau en profondeur (Clémentine, 2016).

Le présent travail s'intéresse aux effets de l'uranium sur la germination et la croissance au stade juvénile du *Cleome amblyocarpa*. Nous verrons en première partie, une étude bibliographique qui étudie la relation entre l'uranium et la pollution, puis, une deuxième partie, consacrée au matériel utilisé et les méthodes mises en œuvre dans cette expérimentation, à savoir l'étude de protocole expérimental et les différentes techniques d'analyse. Suivie par une troisième partie qui exposera les résultats obtenus et leurs interprétation couronnée par une discussion, enfin, une dernière partie avec une conclusion.

CHAPITRE I. Métaux 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 Mendeleïev (Issaka, 2014).

1 1.008 H HYDROGÈNE																	2 4.002 He Hélium
3 6.941 Li LITHIUM	4 9.012 Be Béryllium											5 10.01 B Bore	6 12.011 C Carbone	7 14.007 N Azote	8 15.999 O Oxygène	9 18.998 F Fluor	10 20.18 Ne Néon
11 22.99 Na Sodium	12 24.305 Mg Magnésium											13 26.982 Al Aluminium	14 28.086 Si Silicium	15 30.974 P Phosphore	16 32.06 S Soufre	17 35.453 Cl Chlore	18 39.948 Ar Argon
19 39.098 K Potassium	20 40.078 Ca Calcium	21 44.956 Sc Scandium	22 47.867 Ti Titane	23 50.942 V Vanadium	24 58.933 Cr Chrom	25 54.938 Mn Manganèse	26 55.845 Fe Fer	27 58.933 Co Cobalt	28 58.933 Ni Nickel	29 63.546 Cu Cuivre	30 65.38 Zn Zinc	31 69.723 Ga Gallium	32 72.64 Ge Germanium	33 74.922 As Arsenic	34 78.96 Se Sélénium	35 78.96 Br Brome	36 83.8 Kr Krypton
37 85.468 Rb Rubidium	38 87.62 Sr Strontium	39 88.906 Y Yttrium	40 91.224 Zr Zirconium	41 92.906 Nb Niobium	42 95.94 Mo Molybdène	43 101 Tc Technetium	44 101.07 Ru Ruthénium	45 102.91 Rh Rhodium	46 106.42 Pd Paladium	47 107.87 Ag Argent	48 112.41 Cd Cadmium	49 114.82 In Indium	50 118.71 Sn Étain	51 121.76 Sb Antimoine	52 127.6 Te Tellure	53 126.905 I Iode	54 131.29 Xe Xénon
55 132.91 Cs Césium	56 137.33 Ba Baryum	57-71 La-Lu Lanthanoïdes	72 178.49 Hf Hafnium	73 180.95 Ta Tantale	74 183.84 W Wolfram	75 186.21 Re Rhenium	76 186.21 Os Osmium	77 188.91 Ir Iridium	78 195.08 Pt Platine	79 196.97 Au Or	80 200.59 Hg Mercure	81 204.38 Tl Thallium	82 207.2 Pb Plomb	83 208.98 Bi Bismuth	84 (209) Po Polonium	85 (210) At Astatine	86 (222) Rn Radon
87 (223) Fr Francium	88 (226) Ra Radium	89-103 Ac-Lr Actinoïdes	104 (261) Rf Rutherfordium	105 (262) Db Dubnium	106 (263) Sg Seaborgium	107 (263) Bh Bohrium	108 (265) Hs Hassium	109 (264) Mt Meitnerium	110 (266) Uu Ununium	111 (267) Uub Unbium	112 (268) Uub Unbibium	113 (269) Uuh Untrium	114 (269) Uuq Unquadium				

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).

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).

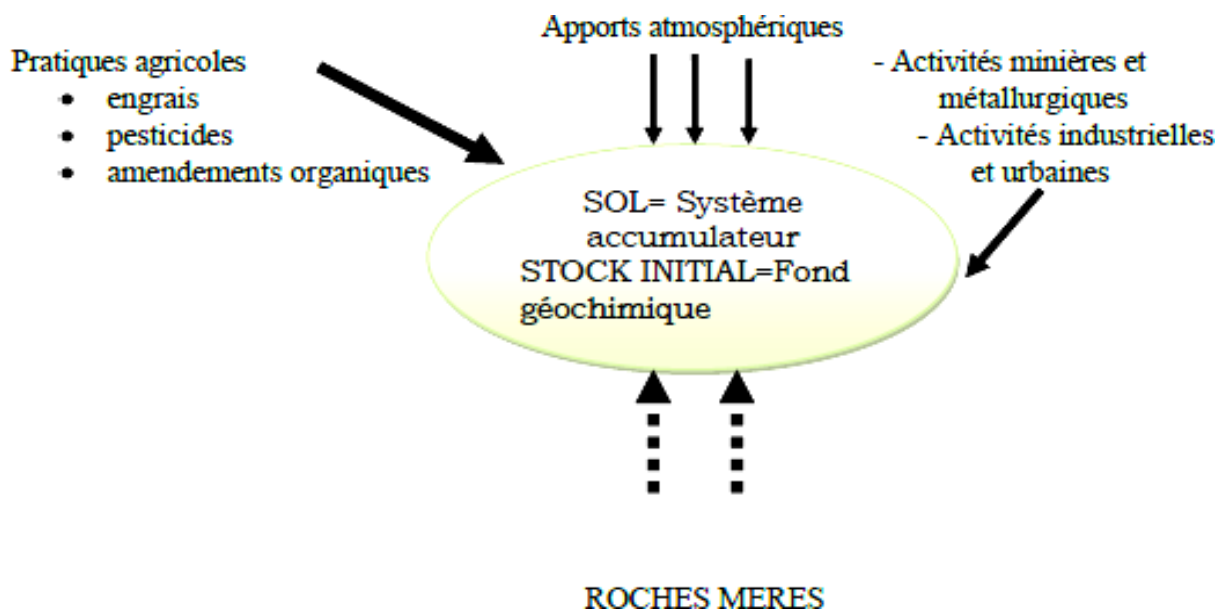


Fig.1: Origines des métaux lourds dans le sol (Robert et Juste, 1999).

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 l'uranium

I.4.1 –Etat de l'art de l'uranium

En 1896, Henri Becquerel découvre que des sels d'uranium sont capables d'émettre des rayonnements ayant comme propriété de noircir les plaques photographiques (Genet, 1996). Cette découverte marque le début de l'histoire de la radioactivité. L'uranium

devient rapidement un élément très important pour l'activité humaine, à partir de 1939 notamment, après la découverte de sa fission. Il est d'abord utilisé dans la fabrication de **la bombe** d'Hiroshima, puis dans la production d'énergie électrique. Aujourd'hui, l'uranium est exploité par de nombreuses activités industrielles et sa dispersion dans l'environnement et dans la chaîne alimentaire génère des inquiétudes pour la santé humaine et la protection de l'environnement.



Fig.2 : Divers objets en verre contenant de l'uranium, éclairés sous lumière ultraviolette.(Wikimedia Commons, 2005-2010).

I.4.2. L'uranium

L'uranium est un élément chimique de symbole U et de numéro atomique 92. C'est le 48^{ème} élément naturel en termes d'abondance 7, son abondance est supérieure à celle de l'argent, comparable à celle du molybdène ou de l'arsenic, quatre fois moins abondant que le thorium. Il se trouve partout à l'état de traces, y compris dans l'eau de mer. (Kambale, 2019)

C'est un métal lourd radioactif (émetteur alpha) de période très longue (~ 4,5 milliards d'années pour l'uranium 238 et ~ 700 millions pour l'uranium 235). Sa faible radioactivité, additionnée à celle de ses descendants dans sa chaîne de désintégration, génère une puissance de 0,1 watt par tonne, ce qui en fait, avec le thorium (quatre fois plus abondant, mais trois fois moins radioactif), la principale source de chaleur qui tend à maintenir les hautes températures du manteau terrestre, en ralentissant de beaucoup son refroidissement. (Kambale, 2019)

L'isotope ^{235}U est le seul isotope fissile naturel. Sa fission libère une énergie voisine de 200 MeV par atome fissionné. Cette énergie est plus d'un million de fois

supérieure à celle des combustibles fossiles pour une masse équivalente. L'uranium est répandu dans les profondeurs du globe terrestre. La désintégration d'uranium 238 et 235 et d'autres radionucléides entretiennent encore en énergie thermique le noyau terrestre, mais surtout le manteau rocheux terrestre, et donc toute la géothermie^{23(*)}. Le gisement de Shinkolobwe située non loin de Likasi au Katanga (ex-Shaba) en République Démocratique du Congo, la mine de Shinkolobwe [11°02'S, 26°35'E] est officiellement fermé depuis 1960 mais des mineurs clandestins continuent d'y extraire de l'uranium. (Kambale, 2019)

L'uranium est un métal lourd présent partout dans la croûte terrestre à des concentrations de deux ou trois ppm en moyenne. Ceci fait de lui un élément beaucoup plus fréquent dans l'environnement que d'autres métaux tels que l'or, l'argent ou l'étain. La particularité de cette matière est qu'elle possède un lourd noyau instable causant une lente désintégration jusqu'à la création d'un élément au noyau stable. Ceci est la source des émissions de rayonnements ionisants, nocifs pour la santé humaine (De la Vaissière et autres, 2013). Le temps que prend un élément pour désagréger la moitié de sa masse se nomme la demi-vie. afin d'obtenir un noyau stable, l'uranium²³⁸ subira 14 désintégrations créant à chaque fois des éléments différents ayant des demi-vies variables jusqu'à la création d'un élément stable, le plomb²⁰⁶. Cet évènement en chaîne est à l'origine de la formation du radon (Association nucléaire canadienne, 2010a).

Ayant une demi-vie de 4,5 milliards d'années, l'uranium²³⁵ (0,7%) ayant une demi-vie de 700 millions d'années et des traces d'uranium²³⁴. Bien qu'il soit présent en plus forte concentration, l'uranium²³⁸ est une source d'énergie beaucoup plus difficile à utiliser que l'uranium²³⁵. (Ressources naturelles Canada, 2009b) L'importance de la radioactivité d'un élément est liée à son instabilité, donc la demi-vie d'un élément radioactif à l'état naturel. La faible instabilité de l'uranium explique sa faible radioactivité. La toxicité de l'uranium dans l'environnement résulte beaucoup plus de sa caractéristique de métal lourd que de sa radioactivité (De la Vaissière et autres, 2013). Généralement, l'uranium se retrouve sous forme oxydée, soit en octoxyde de trituranium (U₃O₈) ou en dioxyde d'uranium UO₂. Ces deux formes de l'élément sont peu solubles dans l'eau. Toutefois, en présence d'oxygène, l'uranium se retrouve sous forme d'ion uranyle. Cet ion est soluble, il peut donc contaminer les sols et la nappe phréatique (De la Vaissière et autres, 2013).

1.4.3. Les sources d'uranium

Les 63875 tonnes d'uranium consommées en 2010 provenait à 85% de la production mondiale (soit 54670 tonnes, 6% de plus qu'en 2009 et 25% de plus qu'en 2008), les 15% restant ayant été couverts avec de l'uranium déjà extrait (sources dites « secondaires » telles que les stocks publics et privés excédentaires, la conversion de l'uranium hautement enrichi de qualité militaire en uranium faiblement enrichi, le réenrichissement de résidus d'uranium appauvri et le retraitement du combustible usé). Cette année-là, 22 pays se sont déclarés producteurs d'uranium mais 8 d'entre eux produisaient à eux seuls 93% de l'uranium mondial. Il s'agit du Kazakhstan (33%), du Canada (18%), de l'Australie (11%), de la Namibie (8%), du Niger (8%, avec notamment les mines d'Arlit exploitées par AREVA qui sont les principales pourvoyeuses de l'uranium français), de la Russie (7%), de l'Ouzbékistan (5%) et des USA (3%). (Dartiguelongue, 2014)

Selon l'AIEA(OECD/IAEA Uranium 2011), les ressources conventionnelles en uranium (primaires et secondaires) seront plus que suffisantes pour satisfaire les besoins des centrales nucléaires jusqu'en 2035 dans le cas de l'hypothèse haute. Cependant, même si certains facteurs contribuent actuellement à une baisse du prix de l'uranium (politiques de sortie du nucléaire consécutives à l'accident de Fukushima, découvertes de gisements de gaz naturel bon marché, climat financier peu propice aux investissements, etc.), il devrait remonter sous peu du fait de l'augmentation des coûts de production et de la forte demande des pays émergents USA (3%).

Pour diminuer cette pression qui s'exercerait presque totalement sur les mines du fait de la diminution des stocks militaires, il paraît essentiel de diversifier les apports d'uranium. Les ressources dites « non conventionnelles » pourraient ainsi devenir rentables dans les années à venir. On peut en distinguer quatre types :

- Les minerais de phosphate(OECD/IAEA Uranium 2011) : historiquement, c'est la seule ressource non conventionnelle à partir de laquelle de l'uranium a déjà été exploité industriellement. Ainsi, la Belgique produisit, à partir de phosphates marocains, 686 tonnes d'uranium entre 1975 et 1999. Durant la période 1954 – 1962, en pleine guerre froide, les USA parvinrent à récupérer 17150 tonnes d'uranium à partir de phosphates provenant de Floride. Cet uranium était très largement destiné à un usage militaire. Dix ans plus tard

commença une seconde vague de production à partir des phosphates, cette fois-ci affectée à un usage civil. Le Kazakhstan aurait également extrait près de 40000 tonnes d'uranium à partir de phosphates issus de dépôts organiques marins. Dans les années 1990, l'extraction de l'uranium à partir des phosphates fut arrêtée faute d'une rentabilité suffisante. Actuellement, seul le Brésil prévoit d'investir dans ce secteur. Sa première usine devrait être inaugurée en 2015 et devrait pouvoir produire 970 tonnes d'uranium par an. Selon (Hilton et *al.*, 2012), au maximum 11000 tonnes d'uranium par an (ce qui représente environ 20% de la production actuelle) pourraient être extraites mondialement de l'acide phosphorique en équipant les usines le produisant avec des dispositifs d'extraction par solvant.

- Les schistes noirs (ampélites) (OECD/IAEA Uranium 2011) : en Finlande, des minerais à basses teneurs en sulfures polymétalliques contiendraient environ 0,0017% d'uranium. Alors que le nickel, le zinc, le cuivre et le cobalt sont extraits après biolixiviation des minerais, rien n'est actuellement prévu pour l'uranium. Pour remédier à cela, la compagnie qui exploite le site prévoit de rajouter un circuit d'extraction par solvant. A terme, le dispositif pourrait produire 350 tonnes d'uranium par an. En Suède, de l'uranium (jusqu'à 0,014%) a été détecté dans des schistes alumineux, ce qui représenterait au total une réserve de près de 600000 tonnes de métal. Cet uranium pourrait commencer à être extrait dans un avenir proche.

- L'eau de mer (OECD/IAEA Uranium 2011) : ressource contenant des quantités d'uranium gigantesques (plus de 4 milliards de tonnes), son exploitation reste délicate du fait des faibles concentrations de métal à récupérer (entre 3 et 4 ppb). Entre 1950 et 1980, l'Allemagne, l'Italie, le Royaume-Uni, le Japon et les USA menèrent des recherches sur le sujet. A l'heure actuelle, seuls les deux derniers poursuivent leurs investigations. Le Japon a par exemple mis au point une installation capable de produire 1200 tonnes d'uranium par an par adsorption de l'eau de mer sur un polymère mais son coût d'exploitation reste trop élevé pour être rentable.

- Les autres sources (OECD/IAEA Uranium 2011) : trois compagnies (Gold One, Gold Fields et Harmony Gold) ont récemment développé des programmes de recherche afin de récupérer l'uranium présent dans les résidus (stériles) issus des mines d'or d'Afrique du Sud. Deux autres entreprises (SpartonResources et Holgoun) tentent

également de traiter les cendres de charbon afin d'en retirer l'uranium. Chacune de ces méthodes pourrait fournir quelques centaines de tonnes d'uranium par an.

Comme nous pouvons le constater, la source non conventionnelle qui paraît le plus intéressant tant au niveau des tonnages obtenus que de la facilité de mise en œuvre de la méthode d'extraction est l'acide phosphorique. Nous allons donc maintenant nous pencher plus en détails sur la production et les principales utilisations de cet acide. Nous chercherons notamment à comprendre comment l'uranium contenu dans les minerais initiaux se retrouve dans le produit final et quelles sont les conséquences d'une telle présence.

1.5. Production et utilisations

a/ Principaux minerais contenant de l'uranium

L'essentiel des gisements uranifères se trouve associé à des granites ou à des roches sédimentaires. L'uranium existe sous 2 formes principales :

- de minéraux primaires formés et demeurés en-dessous de la nappe phréatique : uraninite UO_2 à $UO_{2,67}$, pechblende (oxyde mixte de U(IV) et U(VI)), coffinite (silicate hydraté), brannérite, titanate d'uranium ;

- de minéraux secondaires, formés par oxydation des précédents en conditions superficielles, ou inclus dans des minéraux plus ou moins réfractaires (autunite, chalcolite, vanadates : carnotite $K_2(UO_2)_2(VO_4)_2 \cdot 3H_2O$, apatite, zircon).

Pour les minéralisations liées aux granites, la majeure partie de l'uranium est contenue dans la pechblende, souvent associée à la coffinite, alors que pour les minéralisations sédimentaires, l'uranium est en général lié à la matière organique. La production mondiale d'uranium atteignait environ 44 000 tonnes en 2008 et 49 375 tonnes en 2009 (World Nuclear Association, 2009).

Selon les gisements, le minerai considéré comme exploitable a une teneur de l'ordre de 1 à 200 kg d'uranium par tonne de minerai, soit au moins mille fois la concentration naturelle moyenne du sol. Les gisements sous discordance (on parle de discordance dans les couches de terrain, lorsque ces couches ne se superposent pas régulièrement les unes aux autres) sont actuellement les seuls gisements rentables d'uranium seul. Dans les autres cas, le minerai d'uranium est extrait en tant que co- ou

sous-produit de l'extraction d'or, de cuivre ou de phosphate, rentable par elle-même. Les régions les plus importantes pour des minéraux ou des minerais contenant de l'uranium se situent au Canada (Ontario), en Afrique du Sud, en Australie, en République démocratique du Congo, aux Etats-Unis d'Amérique (Colorado), en Namibie, au Niger, au Brésil, en France, en Argentine et en Russie. En 2009, plus de 60% de la production mondiale d'uranium à partir des mines provenaient de 3 pays : le Canada, l'Australie et le Kazakhstan (World Nuclear Association, 2009).

b/ Principales utilisations de l'uranium

À l'origine, le minerai d'uranium était utilisé dans la céramique et la faïence pour ses pigments jaune, orange et vert. Les uraniums 238 et 235 ont beaucoup d'applications, militaires notamment, mais aussi civiles comme par exemple la datation de l'âge de la Terre à partir de la datation radiométrique. L'uranium a été également utilisé dans le domaine de la photographie et l'est toujours en microscopie électronique à transmission : l'acétate d'uranyle et le formiate d'uranyle sont utilisés comme contrastants pour traiter des coupes d'échantillons biologiques (Laurette, 2011).

L'uranium est une matière nucléaire dont la détention est réglementée (Article R1333-1 du code de la Défense). Il est aujourd'hui utilisé comme combustible nucléaire dans les réacteurs nucléaires (sous forme d'oxydes U_3O_x ou d'oxydes mixtes U-Pu). L'uranium enrichi (en uranium 235) peut aussi servir à la réalisation d'armes nucléaires comme les bombes atomiques (bombes A ou « bombes à fission »), ou les bombes H (« bombes à fusion » ou encore « bombes à hydrogène ») (Laurette, 2011).

L'uranium appauvri, un sous-produit de l'enrichissement de l'uranium, est très prisé pour sa dureté et sa densité. Il est utilisé à titre de contrepoids dans les empennages d'avions ou les quilles de bateaux, dans les hélicoptères et les fusées (il est cependant de plus en plus remplacé par le tungstène), ou encore dans les compas gyroscopiques (de par sa forte inertie) et les systèmes de guidage inertiels. On en trouve également dans les lentilles optiques (jusqu'à 30% en masse) ou dans les dents artificielles en porcelaine. De plus, il est pyrophorique et il est donc employé comme arme antichar ayant un fort pouvoir pénétrant et incendiaire. À très haute vitesse, il perce aisément les blindages en s'enflammant lors de l'impact, provoquant un incendie qui fait exploser le véhicule visé. Ainsi, des munitions à base d'uranium appauvri (obus de 20 à 30 mm des avions ou hélicoptères chasseurs de chars) ont été utilisées lors des guerres du Golfe (guerre du

Koweït et guerre en Irak) et du Kosovo. L'uranium appauvri est aussi utilisé, avec un complément de plutonium, comme nouveau combustible nucléaire (combustible MOX, abréviation de mixed oxide) (Laurette, 2011).

1.6. Propriétés physico-chimiques de l'uranium

1.6.1. Propriétés physiques de l'uranium

Quatre vingt douzième élément de la table périodique, l'uranium est l'atome le plus lourd présent naturellement sur la Terre. A l'état pur, c'est un métal gris et dur, très dense (masse volumique de 19.1 g.cm^{-3}) avec un point de fusion de 1130°C . Il est fortement électropositif (c'est-à-dire qu'il a tendance à perdre des électrons), très réactif à l'oxygène et, sous la forme de fines particules, il est capable de s'enflammer spontanément à température ambiante, il est dit pyrophorique (WHO, 2001).

L'uranium élémentaire est une substance très réactive, capable de réagir avec la plupart des éléments de la classification périodique (Ervanne, 2004). C'est pourquoi il n'existe pas à l'état natif dans la nature, c'est-à-dire à l'état de métal, chimiquement pur ou en alliage. De plus, sous forme de fines particules, l'uranium est pyrophorique à température ambiante. Lorsqu'il brûle, il donne formation à des oxydes mixtes UxOy .(Tableau 3)

Tableau 3 : Principales propriétés physico-chimiques de l'uranium.(Laurette, 2011).

Nom, symbole et numéro	Uranium, U, 92
Série chimique	Actinides
Groupe, période et bloc	L/A, 7, f
Masse volumique	$19\,050 \text{ kg/m}^3$
Volume molaire	$12,49 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3/\text{mol}$
Densité ?	19,05
Masse atomique	238,02891 g/mol
Configuration électronique	$[\text{Rn}] 7s^2 5f^3 6d^1$
Electrons par niveau d'énergie	2, 8, 18, 32, 21, 9, 2, 5
Structure cristalline	orthorombique
Etats d'oxydation	5
Electronégativité (Pauling)	1,38
Etat ordinaire	solide
Température de fusion	1405 K
Température de vaporisation	2070 K
Chaleur massique	$120 \text{ J/(kg} \cdot \text{K)}$
Conductivité thermique	$27,6 \text{ W/(m} \cdot \text{K)}$

1.6.2. Propriétés chimiques de l'uranium

Cet élément se positionne dans la classe A de la classification des éléments définie par Nieböer et Richardson (1980), qui regroupe les éléments métalliques ayant une forte affinité pour l'oxygène et ayant tendance à former des complexes stables.

L'uranium peut adopter quatre états de valence associés aux formes ioniques suivantes: U^{3+} (+III), U^{4+} (+IV), UO_2^{+} (+V) et l'ion uranyle UO_2^{2+} (+VI), fortement électropositif (Ribera *et al.*, 1996). Les formes prépondérantes retrouvées dans l'environnement sont celles caractérisées par les degrés d'oxydation (+IV) et (+VI). En solution aqueuse, l'état d'oxydation de l'uranium va dépendre des conditions oxydo-réductrices du milieu, ainsi que du pH.

D'un point de vue chimique, l'uranium, élément de numéro atomique $Z = 92$, fait partie de la famille d'éléments nommés actinides qui comprend quinze membres, de l'actinium ($Z = 89$) au lawrencium ($Z = 103$). Chaque atome d'uranium possède 92 protons et entre 135 et 148 neutrons (Wikipedia contributors, 2006).

Chimiquement, l'uranium a un comportement similaire à celui des autres éléments du groupe VI du tableau périodique, et ressemble au chrome et au tungstène (Irwin *et al.*, 1997). L'uranium élémentaire est une substance très réactive, capable de former des composés avec la plupart des éléments de la classification périodique (Ervanne, 2004). C'est pourquoi il n'existe pas à l'état natif dans la nature, c'est-à-dire à l'état de métal, chimiquement pur ou en alliage. En effet, en raison de sa forte électropositivité, c'est un élément qui se caractérise par une affinité marquée pour l'oxygène. Il ne se rencontre donc que dans des composés oxygénés (Madic et Genet, 2001).

La classification proposée par Nieböer et Richardson (1980) basée à la fois sur les propriétés chimiques (stabilité des complexes formés avec différents ligands) et biochimiques (affinité avec les ligands rencontrés dans les systèmes biologiques) positionne donc l'uranium, et les actinides en général, dans la classe A. Cette classe comprend les éléments métalliques ayant une forte affinité avec les liaisons oxygène (O^2 , OH, H_2O , R-OH, RCOOH⁻) et formant des combinaisons stables.

De même, les ions uranium sont considérés comme des "acides durs" au sens de Pearson (Pearson, 1963) puisqu'ils réagissent préférentiellement avec les "bases dures" que sont les ligands à atomes donneurs comme l'oxygène ou le fluor. La chimie de

complexation des ions uranium en solution aqueuse est ainsi dominée par l'interaction avec des ligands oxygénés.

L'atome d'uranium présente la configuration électronique externe suivante : $5s^2 5p^6 5d^{10} 5f^3 6s^2 6p^6 6d^1 7s^2$. Les six électrons les plus externes des niveaux 5f, 6d et 7s forment le système des électrons de valence de l'uranium. L'uranium est donc capable d'adopter quatre états de valence associés aux formes ioniques suivantes : U^{3+} (+III), U^{4+} (+IV), UO_2^+ (+V) et UO_2^{2+} (+VI) (Ribera et *al.*, 1996). Néanmoins, les formes largement majoritaires dans l'environnement sont celles caractérisées par un degré d'oxydation (+IV) ou (+VI). Très schématiquement, la géochimie environnementale de l'uranium permet de prédire un transport de l'uranium sous sa forme U(+VI) dans les zones au potentiel d'oxydation (Eh) élevé, et un dépôt par réduction et précipitation dans les zones à Eh faible sous sa forme U(+IV) (Ervanne et *al.*, 2004).

1.6.3. Propriétés nucléaires

► L'uranium naturel :

L'uranium naturel se présente sous la forme d'un mélange de trois isotopes (Tableau 4) : ^{234}U , ^{235}U et ^{238}U (respectivement 0,0054, 0,711 et 99,2836% de la masse totale). De ces trois isotopes de l'uranium, seuls ^{235}U et ^{238}U sont primordiaux (c'est à dire qu'ils existent depuis l'origine de la Terre, depuis 4,5 milliards d'années). L'isotope ^{234}U est quant à lui un produit de la décroissance de ^{238}U (Madic et Genet, 2001).

Leurs périodes radioactives (temps nécessaire à la radioactivité pour décroître de moitié) sont, quant à elles, de $2,44 \cdot 10^5$, $7,10 \cdot 10^8$ et $4,50 \cdot 10^9$ années (respectivement pour ^{234}U , ^{235}U et ^{238}U). Or, plus la période radioactive d'un isotope est longue moins son activité radiologique est importante. Ceci explique le fait qu'environ 49,9% de la radioactivité de l'uranium naturel soit associée à ^{234}U . En effet, malgré sa faible concentration dans l'uranium naturel (0,0054%), ^{234}U présentant une très forte activité spécifique ($2,3 \cdot 10^8$ Bq/g) contribue à l'impact dosimétrique de l'uranium naturel dans des proportions comparables à celles de ^{238}U (qui, malgré sa forte abondance dans l'uranium naturel, ne contribue qu'à hauteur de 48,2% de sa radioactivité totale). Les 2,2% restants sont liés à la décroissance radioactive de ^{235}U (Bleise et *al.*, 2003).

Le tableau 4 présente les caractéristiques nucléaires des isotopes naturels de l'uranium. Ces isotopes, instables, se désintègrent principalement par émission de

rayonnements α (noyau d'hélium ${}^4_2\text{He}$). Ils présentent aussi la propriété de se désintégrer par fission spontanée mais ce processus est beaucoup moins probable (WHO, 2001).

Tableau 4. Données nucléaires des isotopes naturels de l'uranium (Aigueperse et *al.*, 2001).

Isotopes	Période (années)	Emission X et γ		Emission α	
		Energie (keV)	Probabilité d'émission (%)	Energie (MeV)	Probabilité d'émission (%)
${}^{234}\text{U}$	$2,44.10^5$	53,3	0,68	4,723	28,4
		120,9	0,23	4,775	71,4
${}^{235}\text{U}$	$7,98.10^8$	15,5	29	4,218	5,7
		143,8	10,9	4,365	17,0
		163,3	5,0	4,400	55,0
		185,7	57,2	4,556	4,2
		205,3	5,01	4,599	5,0
${}^{238}\text{U}$	$4,5.10^9$	15,4	8,7	4,149	23
				4,196	77

1.6.4 - Propriétés mécaniques

L'uranium présente des propriétés mécaniques très intéressantes (notamment sa résistance) et une densité élevée (1,7 fois celle du plomb). De plus, l'uranium appauvri a un prix très compétitif par rapport aux autres métaux de propriétés du même type (tungstène, osmium, ...). C'est pourquoi il est largement utilisé dans le domaine industriel. L'uranium appauvri entre ainsi dans la fabrication d'ailes et de gouvernails d'avion, de quilles de voilier, de systèmes de protections contre les rayonnements ionisants, de colmateurs d'appareils d'irradiation médicale. Dans le domaine militaire, il est utilisé pour le blindage de chars et la fabrication d'obus perforants (Barillet, 2008).

1.7 - L'élément uranium dans l'environnement : occurrence et comportement

Ce chapitre décrit le comportement de l'uranium dans les écosystèmes terrestres et les écosystèmes aquatiques. Il passe en revue les différents paramètres physiques, chimiques et biologiques qui régissent son devenir dans le milieu naturel. Il présente en

particulier les processus d'échange entre les milieux physiques, sol et eau, et les organismes végétaux et animaux.

1.7.1 - L'uranium dans les roches

L'uranium, présent dans la croûte terrestre depuis la formation de notre planète (**Bonin et Blanc, 2001**), se trouve largement dispersé à l'état de traces dans toutes les roches. Sa concentration y avoisine les 2 à 4 g/t en moyenne (Bosshard et *al.*, 1992 ; Ribera et *al.*, 1996 ; Bleise et *al.*, 2003).

Il entre dans la composition d'au moins deux cents minéraux, classés selon leur origine, séparant ainsi les minéraux primaires des minéraux secondaires. Dans les minéraux primaires (formés en profondeur dans la croûte terrestre, en milieu réducteur) l'uranium se présente sous l'état d'oxydation (+IV) tandis que dans les minéraux secondaires (formés en surface par altération des premiers en milieu oxygéné), l'uranium est à l'état d'oxydation (+VI). (Barillet, 2008)

L'uranium peut être le composant essentiel de certains minéraux rares (p. ex. uraninite, uranothorianite), élément de substitution dans des minéraux communs (p.ex. zircon) et peut également être adsorbé sur la surface des minéraux (par exemple sur les oxy-hydroxydes de fer ou les argiles), associé à la matière organique ou encore dissous dans l'eau interstitielle. (Barillet, 2008).

1.7.2 - Origines de sa redistribution dans l'environnement

Sous l'action des processus d'érosion et autres mécanismes géologiques de formation des sols, l'uranium présent dans les roches est naturellement transféré dans les sols qui en sont issus. Leur lessivage par les eaux de pluie conduit alors naturellement à une dissémination de l'uranium dans toutes les composantes de l'environnement (Colle et *al.*, 2001).

A cette redistribution naturelle de l'uranium dans l'environnement viennent s'ajouter des perturbations anthropogéniques à l'origine d'une dispersion de l'uranium dans les différents compartiments environnementaux (aquatique, terrestre et aérien). Ainsi, on dénombre quatre types d'activités industrielles ayant un impact majeur sur le cycle de l'uranium dans l'environnement: (Barillet, 2008)

- (1) les activités minières et industrielles liées au cycle du combustible nucléaire ;

(2) l'utilisation du charbon qui contient des quantités non négligeables de radionucléides naturels (radium, thorium, uranium, potassium) et dont la combustion conduit à leur libération dans l'atmosphère;

(3) l'utilisation en agriculture d'importantes quantités de phosphates naturels (pouvant présenter des teneurs en uranium telles que leur radioactivité peut atteindre jusqu'à 1 500 Bq/kg) pour la fertilisation des cultures et pour l'élaboration de compléments alimentaires pour le bétail ;

(4) l'utilisation militaire d'uranium appauvri qui peut conduire à un enrichissement des sites bombardés en fines particules d' $\text{UO}_2(\text{s})$ déposées à proximité des lieux d'explosion.

1.7.3 - L'uranium dans les écosystèmes terrestres

1.7.3.1 - L'uranium dans les sols

La teneur moyenne en uranium des sols (si l'on considère la couche superficielle de ceux-ci sur une épaisseur de 30 cm) est de l'ordre de 2 à 3 t/km². Dans la plupart des sols, cela représente une concentration moyenne de 1,8 µg/g, avec une gamme de variation comprise entre 0,5 et 5 µg/g (Ribera et *al.*, 1996).

De par les remaniements géologiques du sol, cet uranium présent en surface va pouvoir gagner des horizons géologiques plus profonds ou bien être redistribué aux autres compartiments environnementaux. Quatre mécanismes principaux vont ainsi influencer sur cette répartition : le transport par le biais de solvants (p. ex. la lixiviation par les eaux de pluie), des phénomènes de diffusion, de transports biologiques (par les plantes, les microorganismes, les insectes du sol, etc.) ou encore par resuspension dans l'air ou l'eau (Ribera et *al.*, 1996).

Le comportement de l'uranium dans les écosystèmes terrestres est également étroitement lié aux conditions d'oxydoréduction du milieu (Gueniot et *al.*, 1988a,b). Ainsi, dans un sol, où les conditions oxydantes prévalent généralement, l'uranium se trouve essentiellement sous forme d'ion uranyle (UO_2^{2+}), à l'état d'oxydation (+VI), et présente donc une forte mobilité. Ceci explique les faibles teneurs en uranium généralement observées dans les sols. Cependant, sous cette forme l'uranium est susceptible de s'associer avec les composés organométalliques et se complexer facilement avec la matière

organique, les carbonates, les phosphates ou les sulfates. C'est pourquoi l'apparition de conditions réductrices (liées à la présence de matière organique) ou la présence de minéraux argileux ou d'oxy-hydroxydes de fer peuvent contribuer à immobiliser l'uranium dans les sols (Laroche, 2004).

Ces différents mécanismes de complexation conditionnent donc pour l'essentiel le comportement de l'uranium dans les sols. Ces phénomènes conduisent, en particulier, à l'existence de zones d'accumulation dans les horizons riches en matières organiques, les minéraux argileux ne jouant qu'un rôle secondaire dans la rétention de l'uranium par les sols.

1.7.3.2 - L'uranium dans les organismes

1.7.3.2.1 - Les végétaux

Du fait de son caractère ubiquiste dans les sols, on retrouve l'uranium dans l'ensemble des populations végétales terrestres. Ainsi, pour les végétaux supérieurs, il existe une forte corrélation entre la teneur en uranium des sols et celle des plantes. L'absorption racinaire est sous la dépendance des mêmes paramètres qui conditionnent la mobilité de l'uranium dans les sols, à savoir leur teneur en matière organique et la présence de phosphates, sulfates et carbonates (Laroche, 2004). En plus de la forme physicochimique de l'uranium, l'espèce végétale considérée, son stade de vie et les conditions climatiques peuvent influencer sur cette prise en charge (Ribera et *al.*, 1996).

1.7.3.2.2 - Les animaux

L'ingestion de particules d'uranium présentes dans les sols ou les organismes végétaux et/ou animaux constitue la voie de contamination majoritaire de la faune terrestre. Elle dépend du mode de vie et du régime alimentaire des organismes (Ribera et *al.*, 1996). Les contaminations par inhalation ou transfert transcutané sont quand à elles plus rares, exception faite des contaminations humaines dans le cadre de l'exploitation du minerai d'uranium (inhalation de poussières) ou de conflits armés impliquant des munitions constituées d'uranium appauvri (blessures).

1.7.4 - L'uranium dans les écosystèmes aquatiques

1.7.4.1 - L'uranium dans la colonne d'eau

Au sein du compartiment aquatique, l'uranium est retrouvé aussi bien dans les eaux de surface que dans les eaux profondes (Ribera et *al.*, 1996). Dans les rivières, les concentrations en uranium sont très variables s'étalant de quelques mg/L à 2 mg/L selon les concentrations de l'élément dans les sols environnants (WHO, 2001 ; Denison, 2004). La proximité d'une zone impactée par l'activité humaine (p. ex. exploitation d'une mine) peut influencer sur ces concentrations naturelles et résulter en une élévation localement importante des teneurs en uranium, pouvant aller jusqu'à 10 voire 20 mg/L (Ragnarsdottir et Charlet, 2000). Dans les océans, la teneur moyenne en uranium est relativement faible (de l'ordre de 3,3 µg/L) et ne semble pas avoir beaucoup évolué au cours des temps géologiques (Ragnarsdottir et Charlet, 2000). L'apport par les fleuves permet en effet de compenser les pertes par piégeage dans les sédiments ou par incorporation dans les minéraux sous le plancher océanique.

1.7.4.2 - L'uranium dans les sédiments

Malgré la forte solubilité de l'uranium dans les eaux de surface (Coward et Burnett, 1994), les sédiments accumulent les concentrations les plus élevées et les charges les plus importantes d'uranium dans les écosystèmes dulçaquicoles (Hynes, 1990). Les concentrations en uranium retrouvées dans les sédiments superficiels de milieux impactés par les rejets miniers d'uranium au Canada s'étendent de moins de 100 à plus de 1000 µg/g poids sec (Swanson, 1985 ; McKee et *al.*, 1987 ; Joshi et *al.*, 1989). En Canada, des concentrations de 5 650 et même jusqu'à 18 000 µg/g poids sec ont même été mesurées dans des sédiments situés en aval de rejets miniers, respectivement au lac Wollaston et au "Port Hope Harbor", (Neame et *al.*, 1982 ; Hart et *al.*, 1986). Cette faculté des sédiments à fixer de grandes quantités d'uranium confère donc à ce compartiment du biotope un rôle de stockage significatif (Ribera et *al.*, 1996).

Chapitre II : Phytoremédiation.

II.1. Nécessité de la dépollution

Ces dernières années, le développement de techniques efficaces pour décontaminer les sites pollués est devenu indispensable. L'une d'elles la phytoremédiation, exploite les propriétés de certaines plantes à accumuler de grandes quantités de métaux lourds (Prabha *et al.*, 2007). Recourir à des techniques industrielles peut être utilisé efficacement pour nettoyer des sols contaminés mais la plupart de ces techniques exigent une technologie performante et sont par conséquent seulement chères et convenables pour des petites régions pollués (Moffat, 1995).

II.2. Généralités sur la phytoremédiation

Il existe plusieurs méthodes de dépollution des sols. Les méthodes physicochimiques 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).

II.3. Définition de la phytoremédiation

Étymologiquement, le terme phytoremédiation est issu du grec phyto qui signifie plante et du latin remedium qui signifie corriger un méfait (Bert et Deram, 1999). Nous pouvons définir le terme comme étant l'utilisation de plantes (arbres, espèces hyperaccumulatrices, plantes cultivables, etc.) et de leurs microbiotes associés, d'amendement du sol et de techniques agricoles pour bloquer, extraire, accumuler, transformer ou détruire les contaminants environnementaux. Ces techniques sont utilisées pour le traitement des sols, boues, sédiments, effluents liquides voire gazeux et s'appliquent aux polluants organiques mais aussi inorganiques comme les métaux lourds ou les radioéléments (Cunningham *et al.*, 1995 ; Dechamp et Meerts, 2003).

II.4. 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).

II.5. Techniques de la phytoremédiation

Il existe plusieurs techniques de phytoremédiation. Parmi celles-ci, celles qui s'appliquent le plus souvent aux sols sont (Bert et Deram, 1999 ; Mulligan et *al.*, 2001) :

- la phytodégradation.
- La Rhizofiltration.
- la phytoextraction.
- la phytostabilisation.
- la phytovolatilisation.

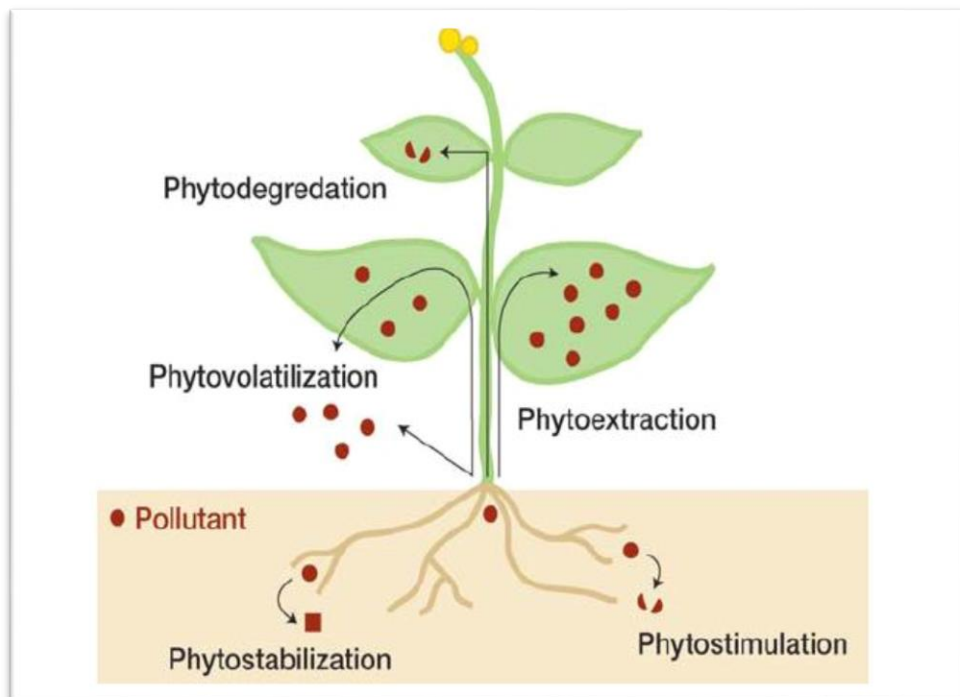


Fig.3 : Les principales techniques de phytoremédiation (Pilon-Smits, 2005).

II.5.1. Phytodégradation

Elle correspond à la dégradation des polluants organiques dans la plante elle-même ou grâce aux microbes associés aux plantes dans leur rhizosphère ou dans leurs racines (mycorhizes, endophytes bactériens). Les plantes peuvent dégrader elles-mêmes des composés organiques grâce à leurs enzymes. (déhalogénases, oxygénases, nitroréductases...) Elles les catabolisent en composés inorganiques ou les dégradent en des formes plus stables qu'elles pourront stocker. La dégradation peut avoir lieu dans les parties aériennes et les racines (Pilon et Smits, 2005 ; Remon, 2006).

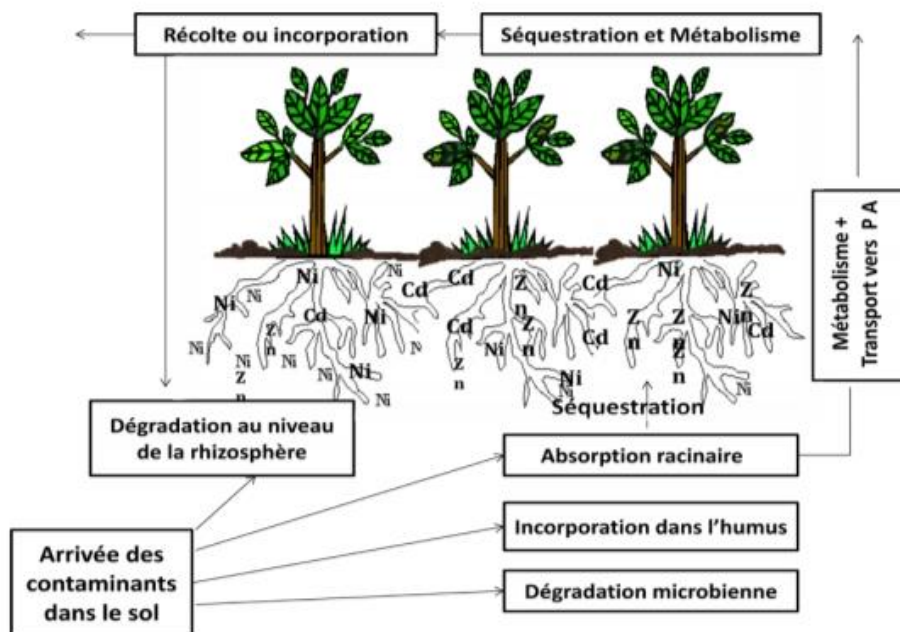


Fig.4 : Processus de la phytodégradation des contaminants au niveau du sol (Chedly, 2006).

II.5.2. Rhizofiltration

La rhizofiltration peut être définie comme étant l'utilisation des racines des plantes pour absorber, concentrer et / ou précipiter les composés dangereux, en particulier des métaux lourds ou les radionucléides (Prasad, 2003) d'un effluent liquide (Koller, 2004).

II.5.3. Phytoextraction

La phytoextraction s'adresse aux sols moyennement à faiblement contaminés. Cette technique consiste à utiliser les capacités qu'ont certaines plantes accumulatrices ou hyperaccumulatrices à transférer via des transporteurs les métaux lourds des racines jusqu'à leurs tissus foliaires dans le but d'extraire les polluants d'un sol contaminé. Après l'accumulation des contaminants par les plantes, celles-ci peuvent être récoltées et traitées. Le procédé est répété jusqu'à ce que l'abaissement du niveau de pollution du sol soit significatif (Bert et Deram, 1999 ; Dechamp et Meerts, 2003 ; ADEME, 2010).

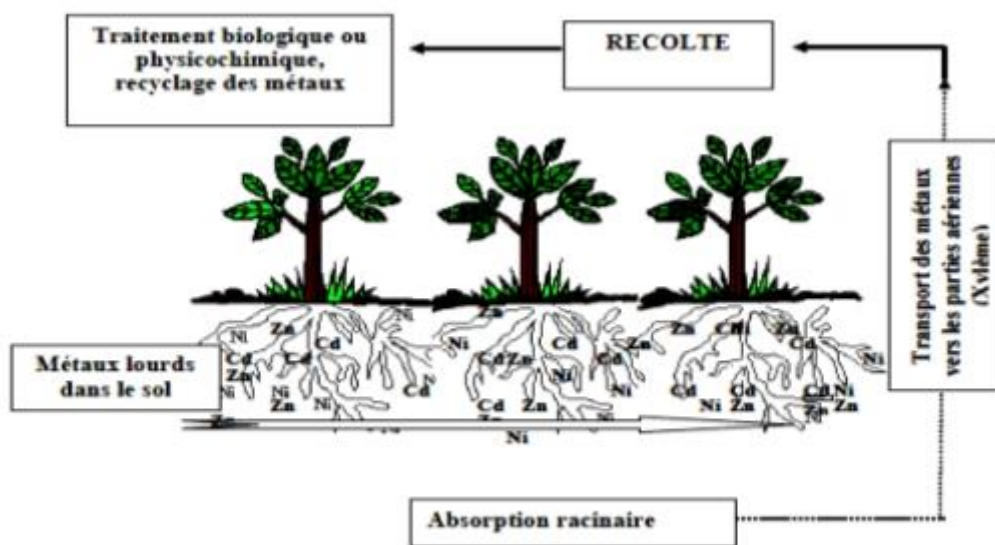


Fig.5 : Représentation schématique du processus de phytoextraction des métaux lourds (Chedly, 2006).

II.5.4. Phytostabilisation

La phytostabilisation est une des techniques de phytoremédiation la plus éprouvée. Ce phénomène se produit souvent naturellement sur des sites contaminés laissés à l'abandon (Dechamp et Meerts, 2003 ; ADEME, 2010). Elle consiste en l'utilisation des capacités de la plante à adsorber les contaminants et à stabiliser le sol via le système racinaire protégeant ainsi les sols de l'érosion par le vent et l'eau et réduisant les percolations d'eau à travers le sol. Les plantes vont immobiliser les contaminants dans la zone racinaire par l'exsudation de composés chimiques, par l'inhibition des protéines de transport dans les membranes racinaires

et par le stockage des contaminants dans les vacuoles des cellules racinaires (Bert et Deram, 1999).

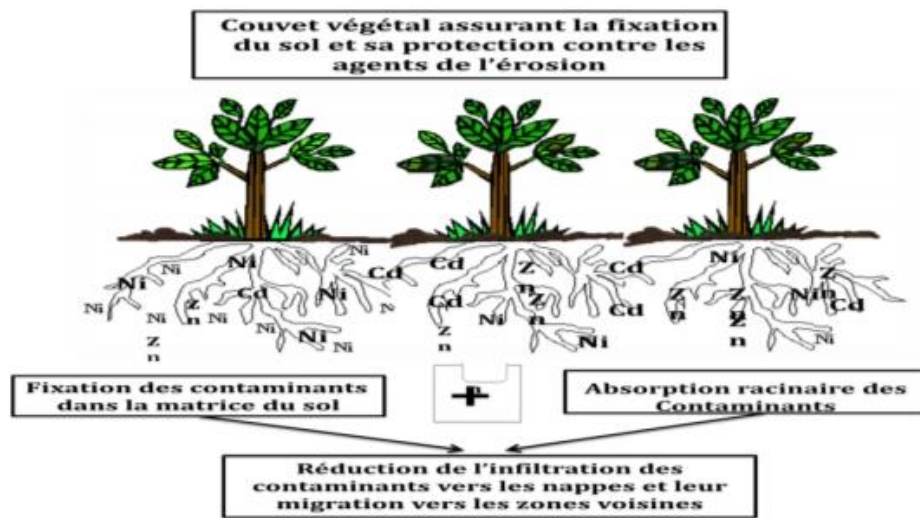


Fig.6 : Processus de la phytostabilisation des contaminants au niveau du sol (Chedly, 2006).

II.5.4. Phytovolatilisation

Cette technique utilise les plantes pour extraire les métaux lourds puis les éliminer par évapotranspiration via les stomates des feuilles ou les tiges. Parmi les métaux lourds, seuls le mercure et le sélénium sont adaptés à cette technique. La possibilité d'y inclure l'arsenic n'est pas à écarter. Une fois volatilisés, les polluants se dispersent dans l'atmosphère à des concentrations qui, normalement, ne représentent plus un danger pour l'homme. La phytovolatilisation présente également l'avantage de ne pas nécessiter de récolter de la biomasse puisque les contaminants sont dispersés dans l'atmosphère (Bert et Deram, 1999 ; Dechamp et Meerts, 2003 ; Pilon-Smits, 2005).

Tableau 5 : 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, B. juncea, N. tabacum, Zea mays</i>	Plantes exclusives (Agrostis tenuis)	Hyperaccumultrices 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

II.6. Avantages et Limites de la phytoremédiation

Les avantages de la phytoremédiation selon Koller (2004), sont:

- Un traitement adapté pour les grandes surfaces contaminées.
- Une faible perturbation du milieu contaminé.
- Une technologie visuellement attractive.
- Une bonne image aux yeux du public.

En plus la Concentration des métaux lourds dans les plantes peut être aussi utilisé dans d'autres domaines, par exemple, comme un indicateur de nouveaux gisements (dépôts) de minéraux (Lutts *et al.*, 2004).

Cependant, La plupart des plantes hyperaccumulatrices sont difficiles à gérer et ont un système racinaire peu profond, leur intérêt est limité par conséquent dans le cas de contaminations moins profondes (Keller *et al.*, 2003). En plus, le temps de traitement est généralement long, le procédé dépend de la météorologie, des attaques des insectes, des microorganismes et des substances phytopathogènes en outre la superficie des sites doit être suffisamment importante pour l'utilisation des techniques agricoles (Koller, 2004).

II.7. Implantation d'espèces tolérantes (Pourquoi restaurer le couvert végétal ?)

L'implantation d'un couvert végétal de plantes tolérantes permet de diminuer la dispersion de contaminants par érosion éolienne et par lessivage. Les plantes tolérantes vont aussi absorber dans une certaine mesure les contaminants créant ainsi une zone d'exposition plus faible pour les autres. L'implantation de végétaux agit aussi de façon indirecte car leur canopée fournit un abri contre le vent et l'ensoleillement souvent élevés dans ces sites et leur litière est source de matière organique (Mench *et al.*, 2005 ; Eranen et Kozlov, 2007).

Dans le cas de la phytostabilisation, un cortège assemblant des espèces ligneuses et herbacées est conseillé. Les arbres permettent de maintenir un flux d'eau vers la surface limitant le lessivage et les herbacées limitent l'érosion éolienne et la dispersion vers les écosystèmes adjacents grâce à leur système racinaire très dense (Pilon et Smits, 2005). Cet assemblage permet d'améliorer des propriétés du sol comme la fertilité ou la capacité d'échange cationique, d'augmenter la quantité de microorganismes et de diminuer l'érosion. L'implantation de légumineuses capables de fixer l'azote atmosphérique est bénéfique pour l'écosystème (Guo *et al.*, 2004). En effet, elles permettent d'enrichir le sol en nutriments et l'utilisation combinée d'annuelles et de pérennes permet de garantir un apport continu de matière organique au sol (Freitas *et al.*, 2004).

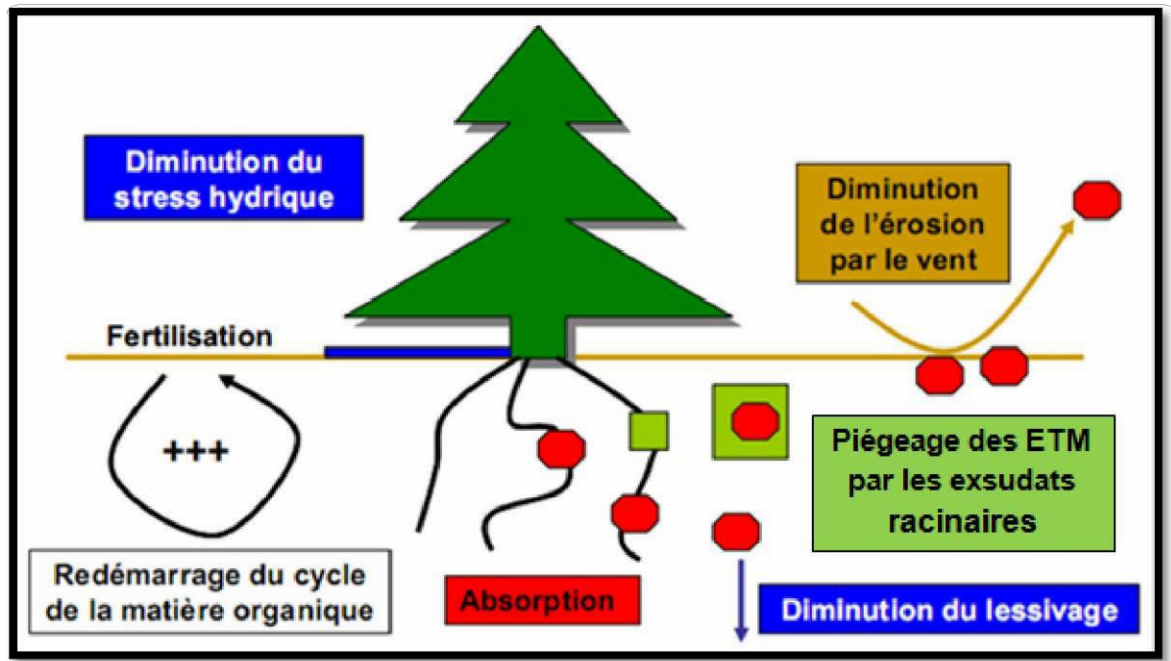


Fig. 7: Effets de l'implantation d'un couvert végétal sur un sol contaminé (Bes, 2008).

Chapitre III: Germination

III.1. Concept et processus de la germination

La germination est un stade physiologique qui correspond à la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase du développement de la plantule, elle commence dès que la graine sèche est hydratée (Anzala, 2006).

La germination d'une graine est définie comme étant la somme des événements qui commencent avec l'imbibition et se termine par l'émergence d'une partie de l'embryon, généralement la radicule, à travers les tissus qui l'entourent. (Bewley et Black, 1994)

L'eau est d'abord absorbée par les ouvertures naturelles de la graine, puis diffusée à travers ses tissus. Les cellules devenues turgescents, la graine grossit alors en volume et devient davantage perméable à l'oxygène et au dioxyde de carbone. À la suite de l'hydratation, sous l'effet de la dilatation de la graine, les téguments s'ouvrent, et l'embryon subit des changements métaboliques qui réamorcent sa croissance (Nivot, 2005).

Des enzymes commencent à dégrader les réserves contenues dans l'albumen ou dans les cotylédons, et les nutriments parviennent aux régions en croissance de l'embryon (Delgado et al., 1994). La synthèse de nouvelles molécules donne lieu à une augmentation en taille de l'embryon jusqu'à ce que ce dernier émerge de la graine (Bray et al., 2000). Le premier organe à émerger de la graine est généralement la radicule qui constitue la racine embryonnaire (Gimeno-Gilles, 2009). S'ensuit l'émergence de l'épicotyle et des cotylédons, qui constituent la partie aérienne de la plantule (Nivot, 2005). Mais pour mieux comprendre le processus de la germination, il est préférable d'élucider la constitution de son site de déroulement, la graine. Le pourcentage de germination des graines du pistachier de l'atlas atteint dans quelques essais est de 20% (Riedacker, 1993) et ce puisque la plus part des graines sont vides (Ait radi, 1997), le taux de germination a atteint 87% dans la réserve naturelle de Mergueb à M'sila.

III.2. Morphologie et physiologie de la germination

III.2.1. Définition

La germination est un processus qui traduit le passage de la vie ralentie d'une graine ou d'un gland sec à sa vie active dans des conditions optimales de germination (Côme, 1970). Elle est régulée par des caractéristiques génotypiques mais aussi par des conditions

environnementales et en particulier par la disponibilité de l'eau dans le sol et la présence du sel (Gutterman, 1993 in Ndour et Danthu, 2000).

Il existe deux catégories de germination (Ammari, 2011):

- **Germination épigée** : les cotylédons sont soulevés par la croissance de la tige.
- **Germination hypogée** : la tigelle ne se développe pas et les cotylédons restent dans le sol.

III.2.2. Morphologie de la germination

Pour une germination il faut que la graine s'imbibe d'eau et se gonfle, le tégument se fend et la radicule émerge et s'oriente vers le milieu (sol) selon un géotropisme positif. Ensuite, la tigelle émerge et s'allonge vers le haut (le ciel). Les téguments de la graine se dessèchent et tombent (Meyer et *al.*, 2004).

III.2.3. Physiologie de la germination

La graine se réhydrate et consomme de l'oxygène pour oxyder ses réserves en vue d'acquies l'émergence nécessaire. Selon Michel (1997), la perméabilité du tégument et le contact avec les particules du sol conditionnent l'imbibition et la pénétration de l'oxygène. Les réserves de toute nature sont digérées.

III.3. Phases de la germination

La germination comprend trois phases successives (Figure 8) :

- Phase d'imbibition. C'est un phénomène d'entrée rapide et passive d'eau. Elle pénètre par capillarité dans les enveloppes (Chaussant et Deunff, 1975).
- Phase de germination (*stricto sensu*). C'est une phase très importante car elle conditionne la croissance ultérieure (Côme, 1982).
- Phase de croissance. Elle est caractérisée par une augmentation de la respiration et l'entrée d'eau. (Chaussant et Deunff, 1975).

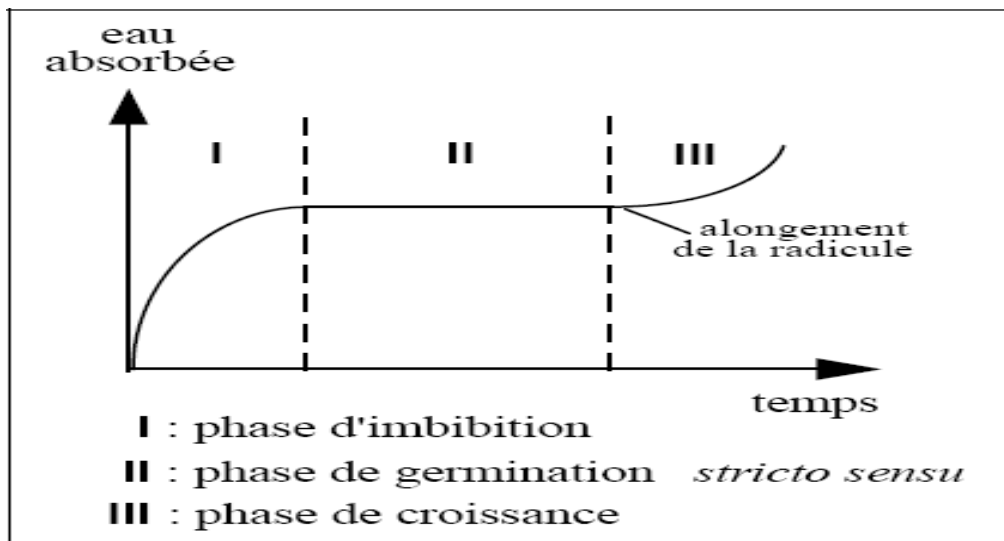


Fig.8 : Les étapes de la germination d'une graine d'après (Meyer et al., 2004)

III.4- Facteurs affectant la germination et la vigueur des graines

La germination et la vigueur des graines sont influencées par une gamme de facteurs environnementaux tels que l'humidité, la température, la lumière, les échanges gazeux et la disponibilité des nutriments et ainsi que l'âge et la taille des graines (Breakford, 1995).

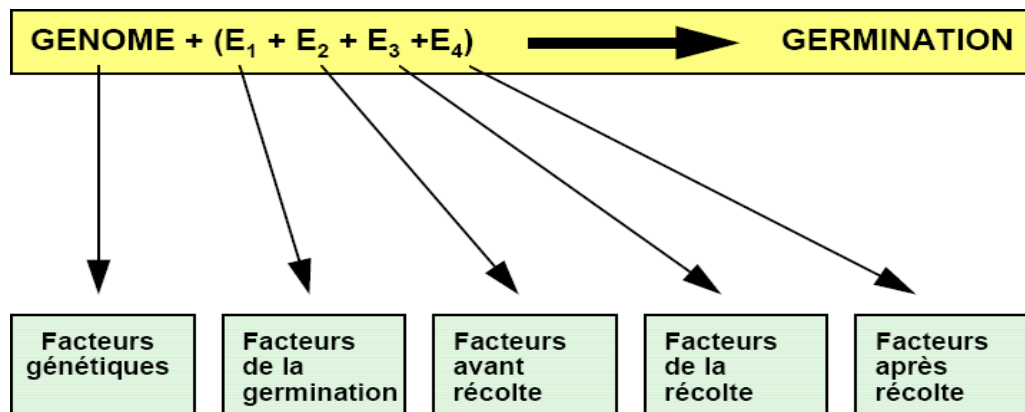


Fig.9: Les différents facteurs impliqués dans la qualité germinative des semences (côme, 1993)

III.4.1. Température

La température est un facteur critique dans la germination de la graine. A température optimale la germination est maximale et rapide (Alvarado et Bradford, 2002). Le métabolisme

de la graine dépend de la température, elle affecte l'activité de l'ATPase, la respiration et la synthèse des protéines (Posmyk, 2001).

III.4.2. Lumière

La germination, la survie des jeunes plantes et leur développement ultérieur dépendent de la lumière. La quantité de lumière reçue par une graine dépend de sa position dans le sol, des caractéristiques de l'enveloppe de la graine et de toutes les autres structures en autour d'elle (Pons, 2000). Les graines sur la surface de sol se comportent différemment des graines enterrées à différentes profondeurs dans le sol (Atwell, 1999).

III.4.3. Humidité

Un état minimum d'hydratation est nécessaire pour la germination des graines. L'humidité est importante pour le maintien de la vie des cellules, pour l'activation des enzymes, la translocation et le stockage des réserves (Copeland et McDonald, 1995). Dans la graine, l'élongation des cellules est l'étape la plus sensible au stress d'eau (Hegarty et Ross, 1980).

III.4.4. Acide abscissique

L'acide abscissique (ABA) est l'inhibiteur primaire de la germination dans beaucoup de graines (Pinfield et Gwarazimba, 1992). La dormance embryonnaire est en droite relation avec la production de l'ABA (Hilhorst et Karssen, 1992). La synthèse d'ABA est accélérée en réponse aux facteurs de stress tel notamment hydrique (Yoshioka, 1995). Le manque d'oxygène augmente la quantité d'ABA endogène et diminue la quantité d'acide gibbérellique (GA3) et de cytokinine des graines de maïs (Prasad, 1983).

III.4.5. Age des graines

La vigueur de la graine diminue pendant le stockage (Lovato et Balboni, 2002). Le vieillissement des graines retarde l'apparition de la radicule, la croissance des jeunes plantes et augmente le développement de jeunes plantes anormales. La vigueur de la graine peut diminuer ou disparaître par le vieillissement. Les températures élevées pendant le stockage peut entraîner le développement des maladies cryptogamiques qui vont détériorer les graines. Le pouvoir germinatif des graines (pourcentage de semences aptes à germer dans les

conditions les plus favorables). La capacité de germination (pourcentage de semences capables de germer dans des conditions bien définies). (Lovato et Balboni, 2002).

III.4.6. Taille des graines

La croissance et le rendement de plantes sont affectés par la taille de la graine. Les graines de grande taille donnent la meilleure capacité et vitesse de germination (Moles, 2006). Les espèces qui ont des graines petites germent généralement dans une gamme étroite de température (Bell, 1995), c'est-à-dire les graines de petite taille induit une perte importante de pouvoir germinatif chez le pistachier de l'Atlas.

III.5. Différents obstacles de la germination

Les obstacles de la germination sont tous les phénomènes qui empêchent le développement d'un embryon non dormant placé dans des conditions convenables (Mazliak, 1982). La dormance est un état provisoire dans lequel des semences viables ne peuvent pas germer même dans des conditions favorables. Selon Hilhorst (2007), la dormance est caractérisée par une absence virtuelle d'activité métabolique et par le manque virtuel de développement et de croissance.

Les semences qui ne germent pas dans les différentes conditions de milieu, sont des semences dites « dormantes », et leur dormance peut concerner soit les téguments (inhibition tégumentaire), soit l'embryon (dormance au sens strict), soit les deux à la fois (Soltner, 2001).

III.5.1. Inhibitions tégumentaires

L'imperméabilité à l'eau ou à l'oxygène cause des dormances tégumentaires, c'est le cas des graines dures (Soltner, 2001). Les inhibitions tégumentaires peuvent être facilement définies par : les semences ont des enveloppes ; totalement imperméable à l'eau, les enveloppes séminales ne sont pas suffisamment perméables à l'oxygène. (Mazliak, 1982).

III.5.2. Dormances embryonnaires

La dormance embryonnaire est due à la présence d'un embryon « sous-développé » au moment de la dissémination des graines. (Baskin et Baskin, 1998). Il existe deux types de dormance embryonnaire : la dormance primaire où l'embryon peut être dormant au moment de la récolte des semences et la dormance secondaire dont laquelle l'embryon est capable de

germer mais il perd cette aptitude sous l'influence des facteurs défavorables à la germination (Chaussat et al, 1975).

III.6. Procédés d'amélioration de la capacité germinative

Afin d'améliorer le pouvoir germinatif des semences, certains traitements sont utilisés. Les plus efficaces se classent en deux grands groupes :

III.6.1. Traitements humides

C'est l'utilisation de l'eau bouillante ou chaude, des acides, des solvants organiques, l'alcool, etc.

- Trempage dans l'eau. Certaines semences peu résistantes à la germination réagissent favorablement à un trempage pendant 24 heures dans de l'eau à température ambiante (Kemp, 1975).
- Eau chaude. L'ébullition favorise généralement la germination et un trempage dans de l'eau chaude (entre 60 et 90°C) est aussi efficace que le trempage à 100°C, mais il y a moins de risques de dommages aux températures moins élevées (Clemens et al., 1977).
- Eau bouillante. Une technique généralement utilisée et qui consiste à immerger les graines dans 4 à 10 fois leur volume d'eau bouillante (100°C), à arrêter le chauffage et à les laisser tremper dans l'eau qui se refroidit progressivement pendant 12 à 24 heures (Delwaulle, 1979).
- Traitement à l'acide. Le produit chimique le plus fréquemment employé pour lever la dormance tégumentaire est l'acide sulfurique concentré.

III.6.2. Traitements à sec :

Chaleur sèche, micro-ondes, percussion, scarification manuelle ou mécanique.

- Chaleur sèche et feu. Le rayonnement solaire ne constitue pas à lui seul un traitement susceptible de favoriser la germination, mais c'est un élément important du traitement par humectage et séchage alternés.
- Scarification manuelle. Elle est considérée comme une des méthodes de prétraitement la plus sûre. Le pourcentage de germination qui s'ensuit est sans doute très proche de la faculté germinative.

- Micro-ondes. Ce traitement a un effet comparable à celui de l'eau bouillante, mais les semences restent sèches. (Wahbi et *al.*, 2010).

Chapitre V : Matériel et méthodes

V.1. Objectif

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de l'uranium sous forme de Nitrate d'uranyle hexa hydraté $[UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$ sur le taux et la cinétique de germination des graines de *Cleome amblyocarpa*, ainsi que la croissance de la racicule et la tigelle.

V.2. Site expérimental

L'essai a été réalisé au niveau de laboratoire de biodiversité et de conservation des eaux et des sols de la Faculté des sciences exactes et informatique Site 2 --Zaghloul Mostaganem.



Fig.14 : Laboratoire de la biodiversité et conservation des eaux et des sols (Université de Mostaganem).

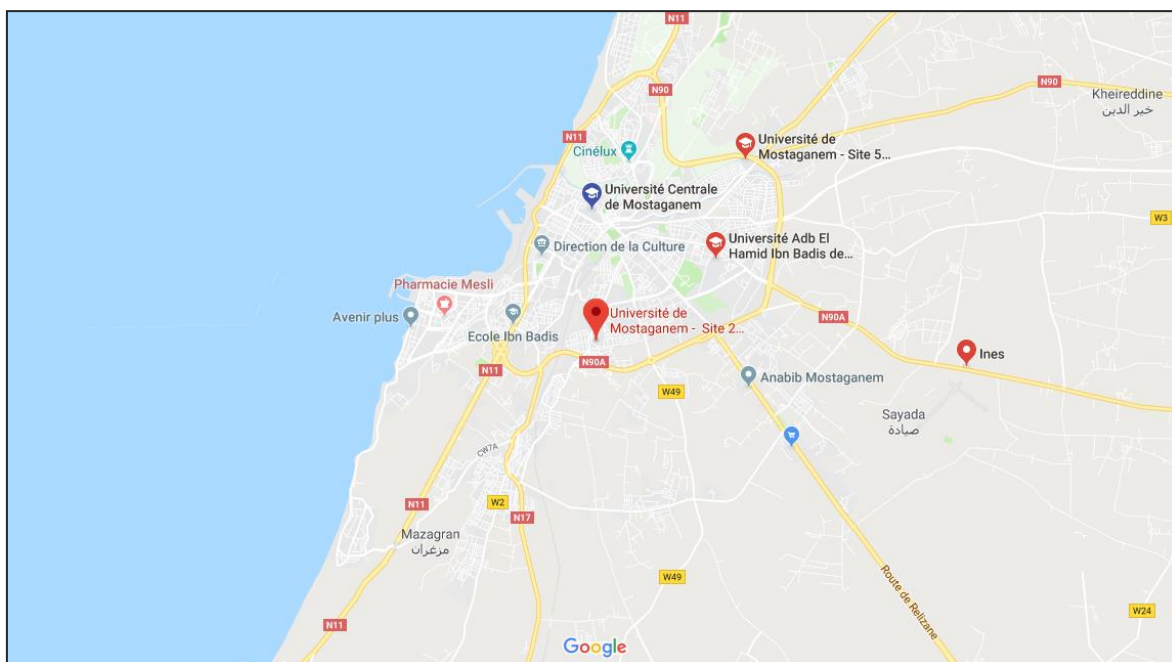


Fig. 15: Localisation de l'université de Mostaganem-Site 2 (Google maps 2018).

V.3. Matériel végétal

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



Fig.16 : graines de *Cleome amblyocarpa*.

V.4. Traitement des grains

Les graines sont désinfectées au préalable par un passage de trois (3) minutes dans de l'hypochlorite de sodium concentré (8°). Elles sont ensuite abondamment rincées à l'eau distillée, puis séchées sur du papier absorbant. Avant la mise à germination, les graines sont déposées dans des boîtes pétri en plastique (20 graines/boîte) à des doses de 0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm de la solution de l'uranium de 10 ml appliquées avec cinq répétitions pour chaque traitement.



Fig.17: Méthodes de traitement des graines de *Cleome amblyocarpa*.

V.5. Germination des graines

Chaque lot de graines de *Cleome amblyocarpa* est mis à germer à l'obscurité dans une étuve réglée à 26°C (Benadjaoud et Aïd, 2005). Les graines de chaque lot sont déposées dans des boîtes en plastique stérilisées (20 graines/boîte), tapissées de papier absorbant et contenant 10ml d'eau distillée (lot témoin) ou 10 ml de la solution de nitrate d'uranyle à des concentrations (0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 ppm). Les traitements de l'expérimentation sont répétés 5 fois pour chaque lot.

Quotidiennement, les graines germées sont comptées pendant quinze jours dans les mêmes conditions de germination (Température et humidité).

Le critère adopté pour constater la germination des graines est le critère de la percée de la radicule (Evenari, 1957). Dès que la radicule des graines de *Cleome amblyocarpa*, de couleur blanchâtre sort hors du tégument, la graine est comptabilisée comme étant une graine germée. Ces dénombrements sont répétés chaque jour pendant les 8 jours de la durée des expérimentations.

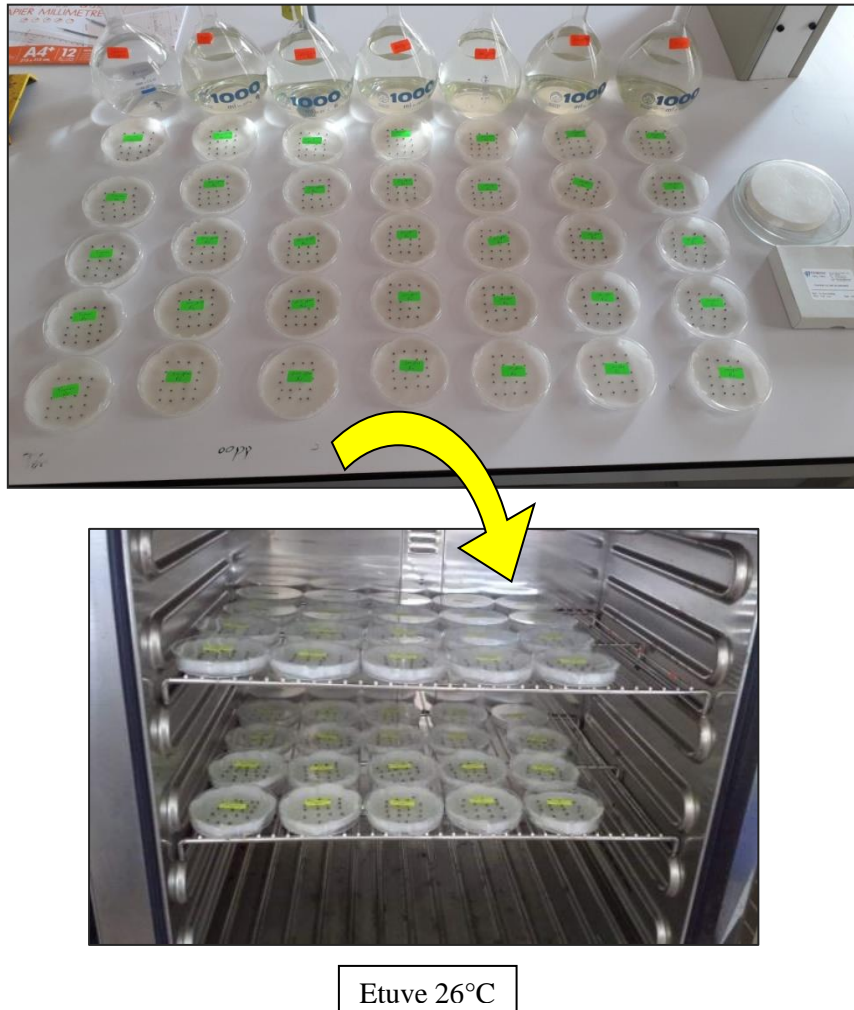


Fig.18 : Dispositif expérimental.

V.6. Paramètres mesurés

V.6.1. Taux de germination final

Les graines germées sont dénombrées quotidiennement pendant huit jours. Les taux cumulés de germination journaliers sont exprimés par le rapport du nombre cumulé de graines germées au jour j sur le nombre total de graines rapporté à 100.

V.6.2. Cinétique de germination

Il s'agit de calculer chaque jour la vitesse de germination sous les différentes concentrations de l'uranium. Elle est exprimée par le nombre de graines germées chaque jour après le début de l'expérience.

V.6.3. Longueur de radicule et tigelle

La cinétique d'élongation racinaire est évaluée par des relevés des longueurs radiculaires à l'aide d'une micro règle de six graines par boîte tous les 2 jours.

V.6.4. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique en utilisant le logiciel R version 3.5.2 (2018-12-20), afin d'étudier l'effet possible de nitrate d'uranyle sur la germination des graines de *Cleome amblyocarpa*.

VI. Résultats et discussion

VII. 1. Effet du Nitrate d'uranyle sur le taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa*

Les résultats obtenus montrent que le taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa* est supérieur à 40% pour toutes les doses. Les graines témoin commencent à germer à partir du 2^{ème} jour, où le taux de germination de *Cleome amblyocarpa* est égale 49%. En présence du Nitrate d'uranyle et chez les doses (100, 150, 200 et 250 ppm), une augmentation du taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa* avec les valeurs 52, 59,63 et 73% respectivement sous l'effet des doses 100, 150, 200 et 250 ppm de nitrate d'uranyle. En revanche, une diminution du taux de germination est signalée sous les doses de 50 et 300 ppm avec les valeurs de 46 et 61% respectivement pour les doses 50 et 300 ppm. Cependant, la germination se stabilise jusqu'au 14^{ème} jours. L'analyse statistique montre une augmentation significative où la probabilité est égale 0,02 à $P < 0,05$.

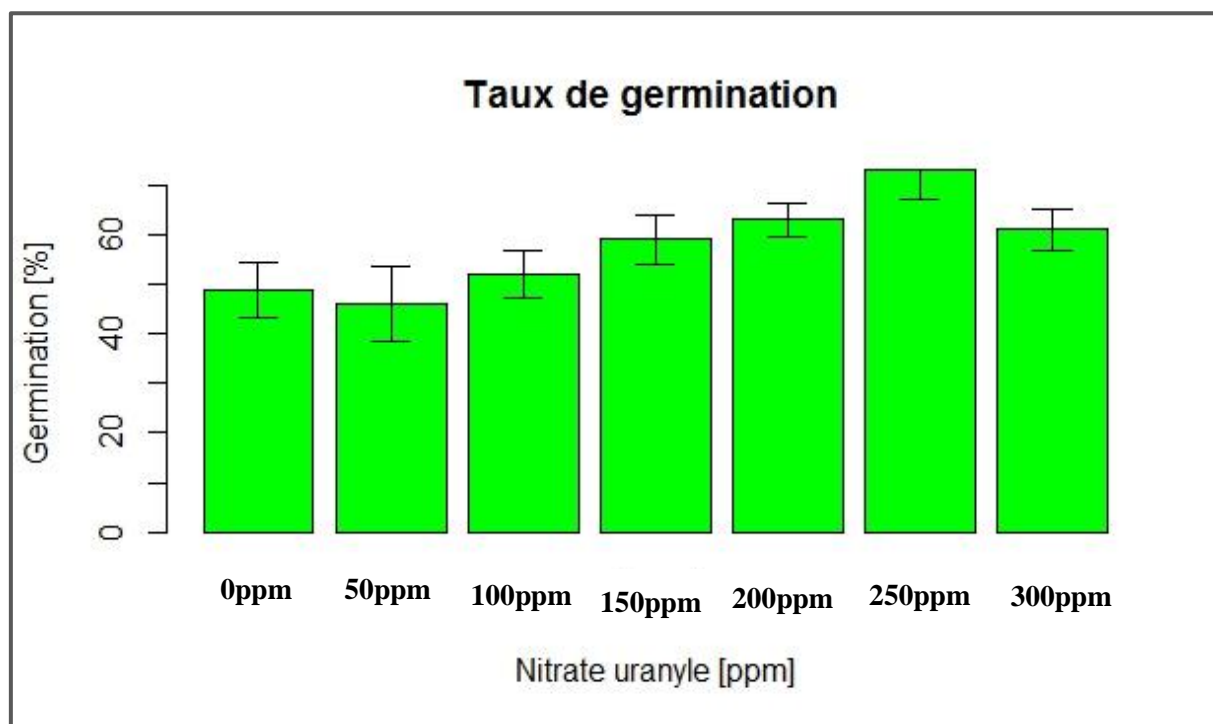


Fig.18: Effet du Nitrate d'uranyle (0, 50,100, 150, 200, 250 et 300 ppm) sur le taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa*.

VI.2. Effet du Nitrate d'uranyle sur la cinétique du taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa*

La figure 19 montre l'évolution de la germination des graines de *Cleome*

amblyocarpa en fonction du temps pour l'ensemble des doses. Ces courbes représentent les taux de germination cumulés pour une période de 15 jours. On peut conclure que sous toutes les doses, Nitrate d'uranyle a un effet remarquable sur le démarrage des graines et la vitesse de germination.

Les courbes montrent que la cinétique de la germination varie distinctement avec les doses utilisées. En effet, les graines témoins germent dès le 2^{ème} jour du semis (soit après 48 h) avec des taux respectifs de 21, 26 et 25, 29, 22, 27 et 20%. Ensuite, la germination s'achève jusqu'au huitième jour avec un taux final de 49% des graines germées.

Il faut souligner que l'expérimentation a été prolongée jusqu'au 15^{ème} jour après le semis mais aucun changement dans le taux de germination n'a été observé.

La cinétique de la germination des graines sous l'effet des concentrations croissantes de Nitrate d'uranyle (Figure 19) décrit une forme sigmoïdale comprenant trois phases. L'analyse de cette cinétique montre généralement une première phase de latence, due à l'imbibition des graines, une deuxième phase exponentielle où l'on assiste à une accélération de la germination et enfin une troisième phase caractérisée par un palier indiquant un arrêt de germination. Chez le témoin, la phase de latence est très courte et ne dure que 2 jours ; la phase exponentielle de germination dure 5 jours avant d'atteindre la phase stationnaire où la germination s'arrête après un maximum de germination. Au fur et à mesure que nitrate d'uranyle augmente, l'allure de cette courbe est modifiée dans le sens d'un étirement, se traduisant par un retard et un ralentissement de la vitesse de germination. C'est ainsi que pour toutes les doses du nitrates d'uranyle, le temps de latence et la phase exponentielle durent respectivement 6 et 15 jours.

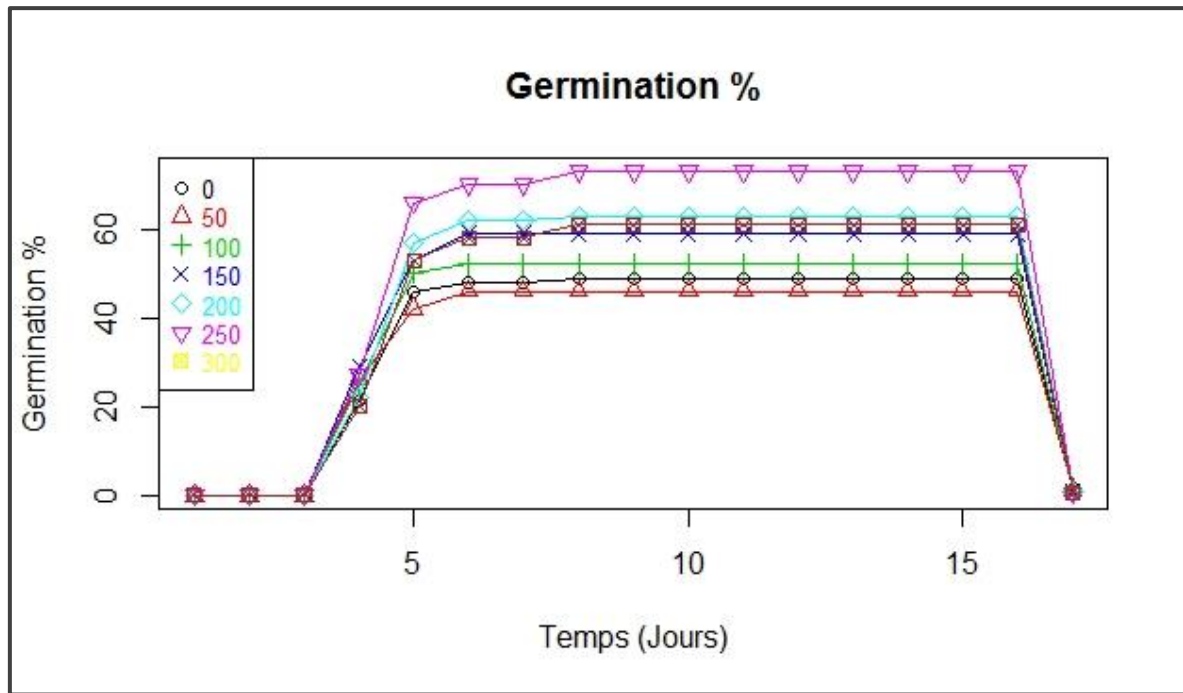


Fig19 : Effet du Nitrate d'uranyle (0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm) sur la cinétique du taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa*

VI.3. Effet du Nitrate d'uranyle sur la longueur aérienne des plantules de *Cleome amblyocarpa*

Les résultats montrent que l'ensemble de la longueur des tigelles des graines de *Cleome Amblyocarpa* testé est supérieur à 2,5cm pour toutes les doses. Pour les graines témoin, nous avons enregistré que la longueur des tigelles de *Cleome amblyocarpa* est égale 3,5cm.

En présence du Nitrate d'uranyle on a enregistré une diminution de la longueur des tigelles que les doses 50, 100, 200 et 300ppm sont diminué la longueur des tigelles respectivement à 3.14, 2.75, 2.65 et 2.71 cm et une augmentation des graines avec des valeurs 2.8 et 2.84 cm respectivement à des doses de 150 et 250 ppm du nitrate d'uranyle respectivement. On enregistre ou la valeur la plus basse est 2,65 cm dans la dose 5 (200 ppm).

L'analyse statistique montre une diminution hautement significative ou la probabilité est égale à 0,000243 ($P < 0,05$).

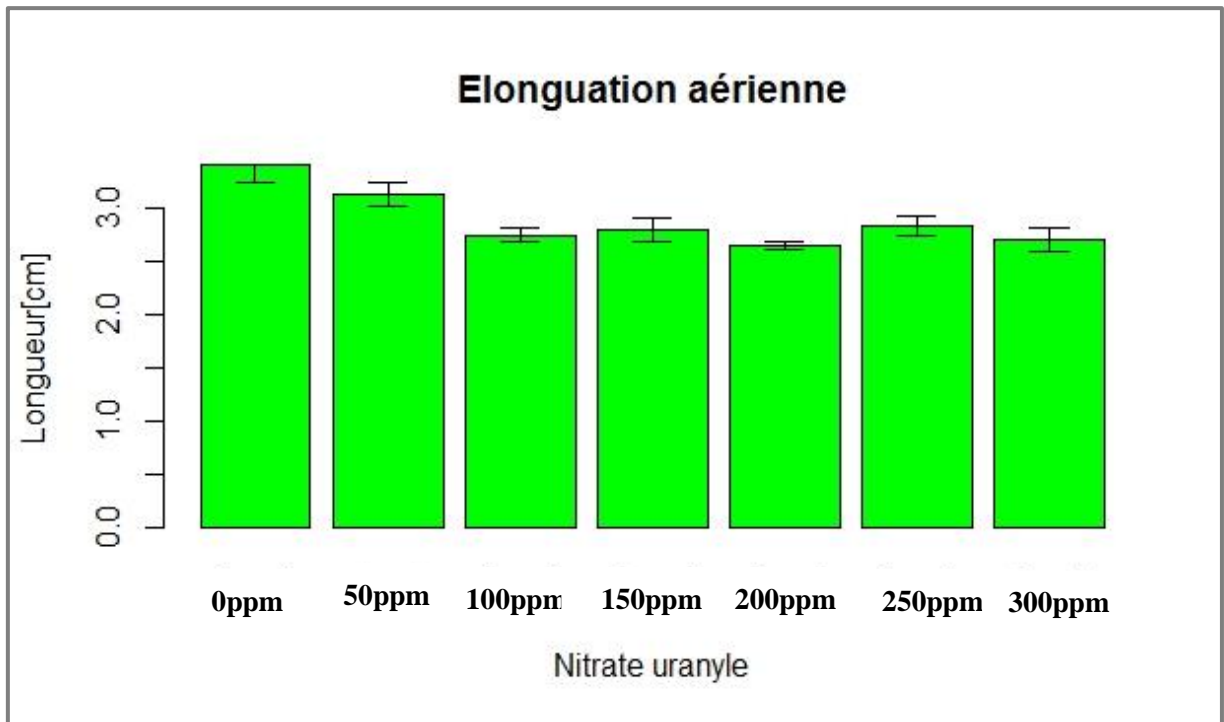


Fig. 20 : Effet du Nitrate d'uranyle (0, 50, 100, 150, 200,250 et 300 ppm) sur la longueur aérienne des plantules de *Cleome amblyocarpa*.

VI.4. Effet du Nitrate d'uranyle sur la cinétique de l'élongation aérienne des graines de *Cleome amblyocarpa*

Selon les résultats obtenus, nous remarquons premièrement que le délai de l'élongation aérienne des graines de *Cleome amblyocarpa* traitées et non traitées (témoin) est pas différent. Les graines démarrent leur l'élongation dès le 5^{ème} jour. A cette date, les graines traitées enregistrent déjà des valeurs 1.54, 1.68, 1.73, 1.72, 1.52, 1.84 et 1.83 cm respectivement aux doses 0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm. L'élongation cumulées des deux lots (témoin et traitées) augmentent régulièrement pour arriver à des élongations aériennes très proches. L'élongation aérienne des graines traitées augmente rapidement jusqu'au 11^{ème} jour, pour atteindre une longueur maximale égale à 3.41, 3.14, 2.75, 2.80. 2.65, 2.84 et 2.71 cm respectivement à des doses 0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm. La longueur reste, après stable jusqu'au 15^{ème} jour.

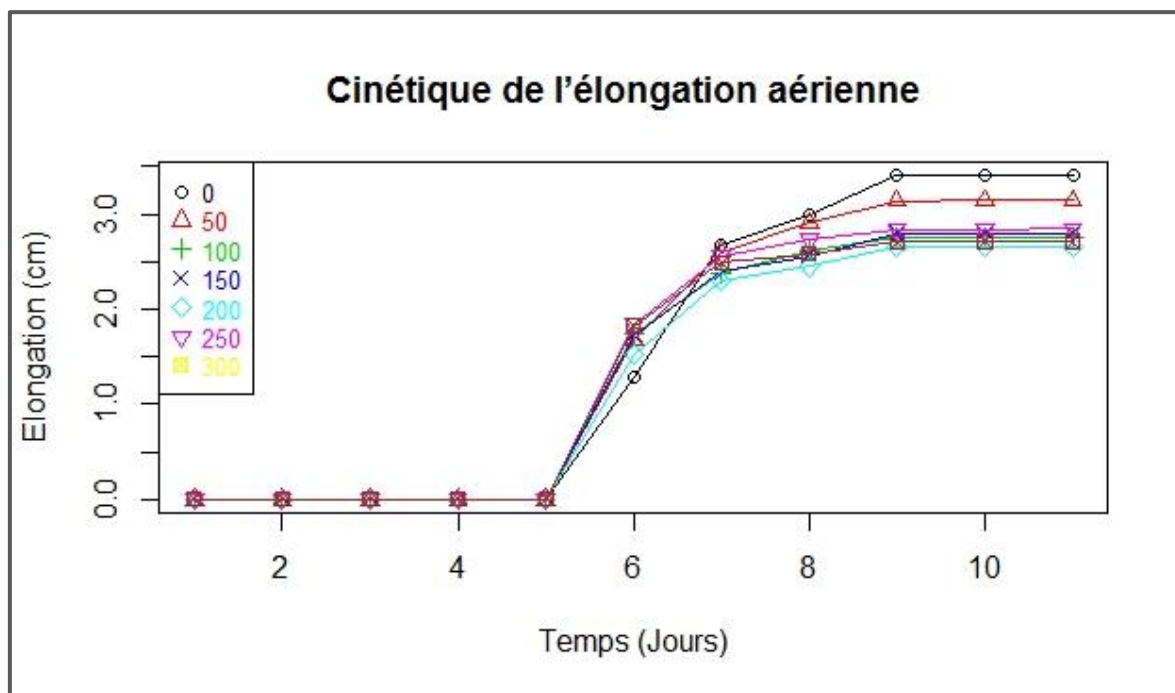


Fig. 21: Effet du Nitrate d'uranyle (0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm) sur la cinétique de l'élongation aérienne des graines de *Cleome amblyocarpa*

VI.5. Effet du Nitrate d'uranyle sur la longueur des racicules des plantules de *Cleome amblyocarpa*

Les résultats montrent que l'ensemble des graines de la longueur des racicules des graines de *Cleome amblyocarpa* testé est supérieure à 0,5 cm pour toutes les doses. Pour les graines témoin, nous avons enregistré que la longueur des racicules de *Cleome amblyocarpa* est égale 1,54cm.

En présence du Nitrate d'uranyle on a enregistré une diminution de la longueur des racicules que les doses 50, 100, 200 et 250 ppm sont diminués respectivement la longueur des racicules à 1.24, 0.92, 0.56 et 0.53 cm et augmentation des graines avec les valeurs 0.93 et 0.58 cm respectivement à des doses 150 et 300 ppm du nitrate d'uranyle respectivement. On enregistre ou la valeur la plus basse est 0.53 cm dans la dose 6 (250ppm).

L'analyse statistique montre une diminution hautement significative ou la probabilité est égale à 0 ($P < 0,05$).

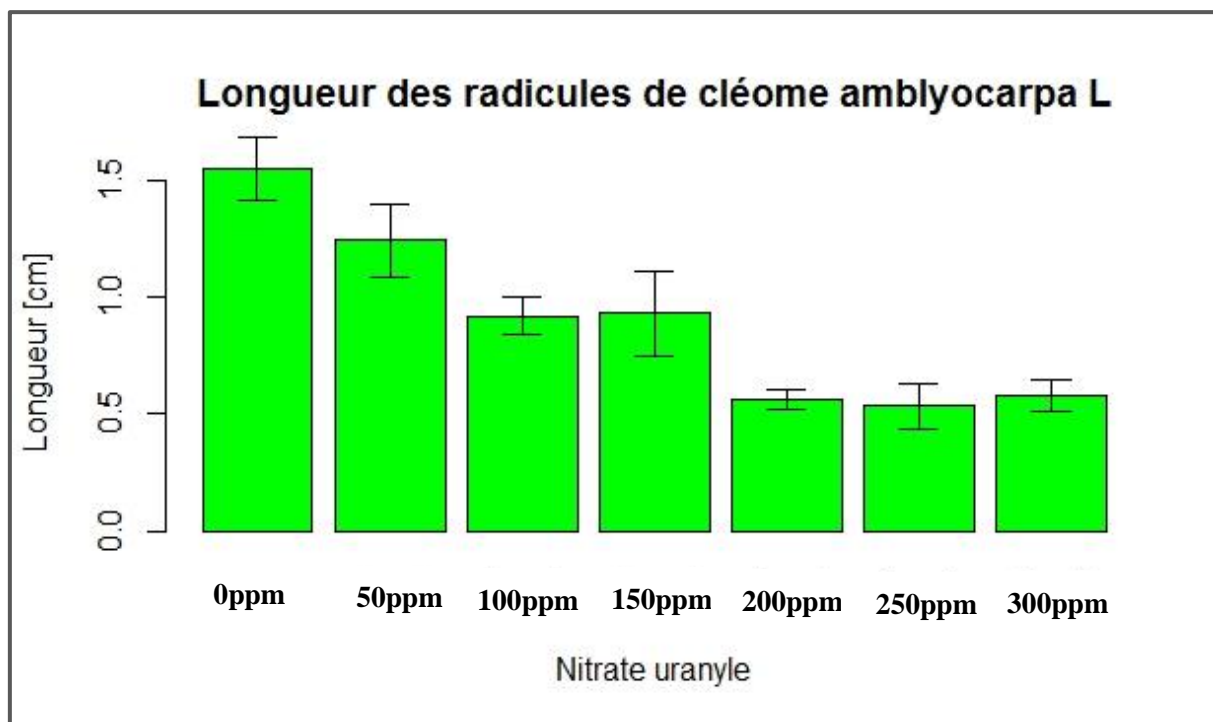


Fig.22: Effet du Nitrate d'uranyle (0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm) sur la longueur des racines des plantules de *Cleome amblyocarpa*.

VI.6. Effet du Nitrate d'uranyle sur la cinétique de la longueur des racines des graines de *Cleome amblyocarpa*

Le délai de l'élongation racinaire des graines de *Cleome amblyocarpa* traitées et non traitées (témoin) n'est pas différent (Figure 22). Les graines démarrent leur l'élongation dès le 3^{ème} jour. A cette date, les graines traitées enregistrent des valeurs 0.42, 0.52, 0.63, 0.46, 0.46, 0,64 et 0.45 cm respectivement à des doses 0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm. L'élongation cumulée des deux lots (témoin et traités) augmentent régulièrement pour arriver à des l'élongation des racines proches. La longueur des racines des graines de *Cleome amblyocarpa* traitées augmente rapidement jusqu'au 6^{ème} jour, puis commencent à diminuer et s'arrêter au 11^{ème} jour aux valeurs 1.55, 1.24, 0.92, 0.93, 0.62, 0.63 et 0.58 cm respectivement à des doses 0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm. Enfin, cette longueur se stabilise jusqu'au 15^{ème} jour.

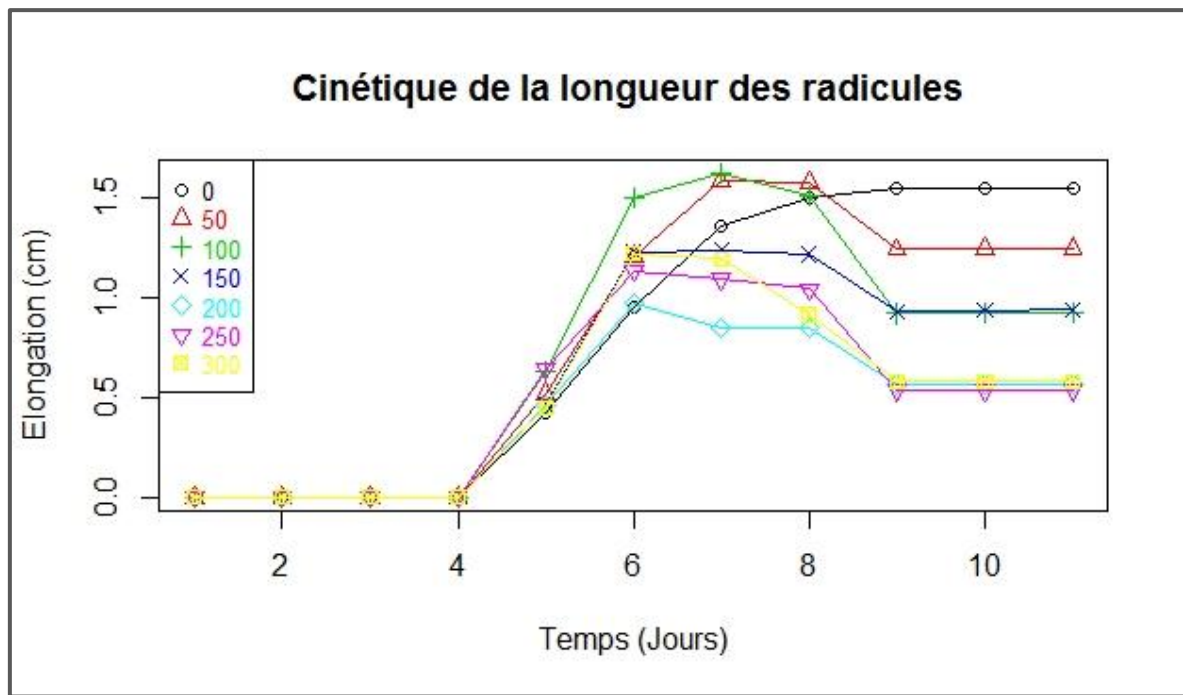


Fig. 23 : Effet du Nitrate d'uranyle (0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm) sur la cinétique de la longueur des radicules des graines de *Cleome Amblyocarpa*

Discussion

L'examen du comportement du *Cleome amblyocarpa* soumis à différentes doses de nitrate d'uranyle (0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm) durant une période de quinze jours et d'évaluer son potentiel de germination a permis de constater :

Une augmentation significative de taux de germination au niveau des graines traitées. Ceci signifie que le *Cleome Amblyocarpa* tolère la présence du nitrate d'uranyle. Des résultats similaires obtenus par Sheppard *et al.* (1992) montrent que la germination de *Phaseolus vulgaris* n'est pas affectée pour une teneur du sol en uranium de 1000 ppm. L'ensemble des seuils de toxicité pour les différentes espèces testées sont relativement hauts et plus élevés que pour d'autres métaux, comme l'arsenic ou le zinc (3 à 8 fois) (Laurette, 2011). D'autres études sur l'effet du nitrate d'uranyle sur l'élongation aérienne des plantules de *Cleome Amblyocarpa*, ont permis d'observer à de fortes concentrations en uranium, un effet inhibiteur sur la capacité reproductrice des espèces est observé (Laurette, 2011). Par ailleurs, Laurette (2011) affirme que le nitrate d'uranyle affecte le nombre de semences produites ainsi que leur capacité de germer en seconde génération chez *Brassica rapa*.

D'après Stojanovic *et al.* (2010) à partir de 100 ppm d'uranium dans le sol, le taux de germination des graines de maïs régresse, cette régression atteignait environ 35% (par rapport au témoin) à 1000 ppm. Le taux de survie des graines germées est également légèrement affecté à partir de 500 ppm.

Lors de notre travail, nous avons remarqué que l'uranium affecte la croissance et la morphologie des parties aériennes de la plante testée de *Cleome amblyocarpa*, celle-ci se manifeste par une diminution de la hauteur des parties aériennes. Nos résultats sont en accord avec ceux de Horemans *et al.* (2010) qui montrent que durant une exposition de 3 jours, l'uranium provoque chez *Arabidopsis thaliana* une diminution de la biomasse fraîche avec une EC₅₀ de 66 µM.

Les symptômes de toxicité relevés par Murthy *et al.* (1984) sur des plants de soja (*Glycine max*) de 4 semaines se traduisent par une chlorose et une abscission précoce des feuilles. A partir d'une forte contamination (42 mg/l d'oxyde d'uranium), une large diffusion de la nécrose des tissus s'est produite. Dans le cas d'une contamination élevée des sols (supérieure à 200 ppm), les plants de corne grecque (*Hibiscus esculentus*) montrent une croissance chétive, une diminution de la couleur verte, une taille réduite des

tiges et des feuilles, et une floraison retardée (Singh et *al.*, 2005). Le piment (*Capsicum annuum*) et le concombre (*Cucumis sativus*) voient leur croissance très affectée à des teneurs en uranium supérieures à 263 ppm dans le sol ; au-delà, les plantes palissent et meurent après quelques semaines (Unak et *al.*, 2007). Au-delà de 100 ppm d'uranium dans le sol, le rendement en matière sèche du maïs diminue significativement, pour atteindre environ la moitié du rendement témoin (sans uranium) à 1000 ppm (Stojanovic et *al.*, 2010). De plus, la hauteur des plants de maïs diminue de 10% par rapport au témoin à 25 ppm; cette diminution atteint 30 à 50 % environ à 1000 ppm.

La germination des graines et l'élongation racinaire du *Cleome amblyocarpa* diminuent significativement sous l'effet des différentes concentrations du nitrate d'uranyle (50, 100, 150, 200, 250 et 300 ppm) par rapport aux témoins. Ceci représente les premières phases de développement de la plante, ce sont des phases sensibles aux stress environnementaux provoqués notamment par les pollutions métalliques. Peu d'études concernant la toxicité de l'uranium sur l'élongation racinaire ont été menées, mais la littérature s'accorde à montrer que de fortes concentrations en uranium inhibent sévèrement le développement des racines des plantes supérieures. Auparavant, Stoklasa et Penkeva (1928) ont testés l'effet de l'uranium sur la germination des graines, ainsi, ils ont pu constater qu'à 200 μM , les effets d'empoisonnement sont notables et les pointes des racines étaient devenues jaunes, alors qu'à 2 mM, les racines étaient fines et jaunes. Enfin, une concentration de 42 mM d'uranium inhibe totalement la germination des graines.

Les résultats obtenus dans notre expérimentation sont en accord avec ceux de Laroche (2005) qui a mesuré les trois plus longues racines latérales de *Phaseolus vulgaris* après 5 jours de germination, afin de déterminer la toxicité du radionucléide. Cette élongation racinaire de plantules de l'haricot est rapidement affectée par la présence d'uranium dans le milieu. L'intensité de cette inhibition et de la teneur à partir de laquelle elle apparaît était dépendante du pH. Après 72 h d'exposition, les EC_{50} déterminées étaient d'environ 2.5 μM et 1 μM à pH 4.9 et 5.8 respectivement.

En 2001, Panda et *al.* montrent que la présence de nitrate d'uranyle en solution hydroponique à une concentration de 25 μM inhibe de façon significative la croissance des racines et la division cellulaire des bulbes d'*Allium cepa* après 5 jours d'exposition. Selon, Ebbs et *al.* (1998a) une toxicité de l'uranium sur les racines de *Pisum sativum* exposées à 5 μM durant 7 jours, aussi, ils ont remarqué un noircissement de l'apex

racinaire, une torsion au niveau des racines latérales, ainsi qu'une diminution de la biomasse racinaire. Chez *Phaseolus vulgaris* un jaunissement des racines après 7 jours d'exposition à 1000 μM selon Vandenhove et *al.* (2006). Nous avons constaté que la croissance de la racine principale est inhibée dès le premier jour d'exposition à 50 μM , et cesse totalement à 500 μM .

Effectivement, plusieurs travaux montrent que la présence d'uranium dans le milieu de la plante influence la capacité d'échange cationique des racines : chez le haricot, celle-ci diminue, suite à la contamination, d'une dizaine de $\text{cmol (+)}/\text{kg}$ au stade floraison, voire plus au stade plantule. Cette réduction de la CEC_R pourrait être le résultat d'un changement de « l'âge moyen » apparent du système racinaire. Ainsi, les substances toxiques inhibent la croissance racinaire et, de ce fait, il augmente l'âge moyen des racines (Dufey et *al.*, 2001).

Enfin, plusieurs auteurs s'accordent qu'un test d'élongation racinaire s'impose pour tester la toxicité de métaux lourds dans un environnement contaminé (Wong et Bradshaw, 1982 ; Ratsch et Johndro, 1986).

Conclusion générale

Ce travail s'inscrit dans le cadre général de la phytoremédiation. Il a eu pour objectif la caractérisation des paramètres de la germination des graines et la caractérisation de la croissance du *Cleome amblyocarpa* sous stress métallique.

Au stade **germinatif**, les résultats indiquent que le *Cleome* se comporte comme une plante moyennement tolérante à l'uranium. Outre leur bonne capacité germinative, les graines ont exprimé une adaptation au stress métallique. D'autre part, le stress métallique affecte les paramètres morphologiques de la racine. Cependant, une légère amélioration de la croissance des plantules du *Cleome* stressé à l'uranium est observée pour les plantes irriguées avec des doses moyennement faibles par rapport à celles des plantes irriguées aux fortes concentrations.

La plante du *Cleome amblyocarpa* traitée avec différentes concentrations du nitrate d'uranyle a réagi avec une diminution significative de la longueur aérienne et de la longueur des racines. Ces paramètres physiologiques modifiés suggèrent que le nitrate d'uranyle induit un stress chez le *Cleome amblyocarpa* au cours de sa croissance par rapport aux témoins, mais le *Cleome* possède des mécanismes de protection qui lui permettra de tolérer cet excès en nitrate d'uranyle.

Par ailleurs, l'étude de la réaction physiologique du *Cleome amblyocarpa* au stress métallique n'est pas une finalité en soit, elle constitue le point de départ d'études plus ciblées. Ce type d'approche permet d'avoir une vue globale de la réaction physiologique de la plante à son environnement, est potentiellement intéressante pour des études futures possibles sur la phytoremédiation des sols pollués en ETM.

Nos résultats montrent qu'il est possible de pratiquer la phytoremédiation des sols pollués en uranium en cultivant le *Cleome amblyocarpa*, mais l'extension de tels résultats aux sols reste à confirmer avec d'autres expérimentations.

**VI.1. Effet du Nitrate d'uranyle sur le taux de germination des graines de
*Cleome Amblyocarpa***

Tableau de significatif :

	Df	Sq Mean	Sq F	F value	Pr(>F)	*
Uranium	6	2599	433.1	3.055	0.0199	
Résiduels	28	3970	141.8			

La corrélation entre les doses :

Uranium	Diff	Lwr	Upr	P adj
dose2-dose1	-3	-26.8889588	20.88896	0.9996306
dose3-dose1	3	-20.8889588	26.88896	0.9996306
dose4-dose1	10	-13.8889588	33.88896	0.8331968
dose5-dose1	14	-9.8889588	37.88896	0.5220700
dose6-dose1	24	0.1110412	47.88896	0.0483703
dose7-dose1	12	-11.8889588	35.88896	0.6873427
dose3-dose2	6	-17.8889588	29.88896	0.9833915
dose4-dose2	13	-10.8889588	36.88896	0.6051848
dose5-dose2	17	-6.8889588	40.88896	0.2989451
dose6-dose2	27	3.1110412	50.88896	0.0190521
dose7-dose2	15	-8.8889588	38.88896	0.4415750
dose4-dose3	7	-16.8889588	30.88896	0.9644021
dose5-dose3	11	-12.8889588	34.88896	0.7646024
dose6-dose3	21	-2.8889588	44.88896	0.1135550
dose7-dose3	9	-14.8889588	32.88896	0.8901575
dose5-dose4	4	-19.8889588	27.88896	0.9981101
dose6-dose4	14	-9.8889588	37.88896	0.5220700
dose7-dose4	2	-21.8889588	25.88896	0.9999653
dose6-dose5	10	-13.8889588	33.88896	0.8331968
dose7-dose5	-2	-25.8889588	21.88896	0.9999653
dose7-dose6	-12	-35.8889588	11.88896	0.6873427

VI.1. Effet du Nitrate d'uranyle sur la cinétique du taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa*

Tableau de significatif :

	Df	Sq Mean	Sq F	F value	Pr(>F)	
Uranium	6	2191	365.2	0.565	0.757	
Résiduels	133	85898	645.8			

La corrélation entre les doses :

Uranium	Diff	Lwr	Upr	P adj
100-0	3.00	-21.06096	27.06096	0.9997800
150-0	6.50	-17.56096	30.56096	0.9837202
200-0	6.50	-17.56096	30.56096	0.9837202
250-0	12.00	-12.06096	36.06096	0.7484229
300-0	4.00	-20.06096	28.06096	0.9988496
50-0	-0.25	-24.31096	23.81096	1.0000000
150-100	3.50	-20.56096	27.56096	0.9994635
200-100	3.50	-20.56096	27.56096	0.9994635
250-100	9.00	-15.06096	33.06096	0.9209923
300-100	1.00	-23.06096	25.06096	0.9999997
50-100	-3.25	-27.31096	20.81096	0.9996501
200-150	0.00	-24.06096	24.06096	1.0000000
250-150	5.50	-18.56096	29.56096	0.9932681
300-150	-2.50	-26.56096	21.56096	0.9999242
50-150	-6.75	-30.81096	17.31096	0.9802380
250-200	5.50	-18.56096	29.56096	0.9932681
300-200	-2.50	-26.56096	21.56096	0.9999242
50-200	-6.75	-30.81096	17.31096	0.9802380
300-250	-8.00	-32.06096	16.06096	0.9542049
50-250	-12.25	-36.31096	11.81096	0.7297790
50-300	-4.25	-28.31096	19.81096	0.9983793

VI.2. Effet du Nitrate d'uranyle sur la longueur aérienne des plantules de *Cleome Amblyocarpa*

Tableau de significatif :

	Df	Sq Mean	Sq F	F value	Pr(>F)	***
Uranium	6	2.242	0.3737	6.418	0.000243	
Résiduels	28	1.630	0.0582			

La corrélation entre les doses :

Uranium	Diff	Lwr	Upr	P adj
dose2-dose1	-0.270	-0.7541215	0.21412151	0.5782476
dose3-dose1	-0.658	-1.1421215	-0.17387849	0.0030591
dose4-dose1	-0.612	-1.0961215	-0.12787849	0.0066371
dose5-dose1	-0.756	-1.2401215	-0.27187849	0.0005631
dose6-dose1	-0.568	-1.0521215	-0.08387849	0.0136550
dose7-dose1	-0.696	-1.1801215	-0.21187849	0.0015952
dose3-dose2	-0.388	-0.8721215	0.09612151	0.1828730
dose4-dose2	-0.342	-0.8261215	0.14212151	0.3068820
dose5-dose2	-0.486	-0.9701215	-0.00187849	0.0486362
dose6-dose2	-0.298	-0.7821215	0.18612151	0.4648798
dose7-dose2	-0.426	-0.9101215	0.05812151	0.1129176
dose4-dose3	0.046	-0.4381215	0.53012151	0.9999270
dose5-dose3	-0.098	-0.5821215	0.38612151	0.9946457
dose6-dose3	0.090	-0.3941215	0.57412151	0.9966299
dose7-dose3	-0.038	-0.5221215	0.44612151	0.9999763
dose5-dose4	-0.144	-0.6281215	0.34012151	0.9617614
dose6-dose4	0.044	-0.4401215	0.52812151	0.9999437
dose7-dose4	-0.084	-0.5681215	0.40012151	0.9976963
dose6-dose5	0.188	-0.2961215	0.67212151	0.8756743
dose7-dose5	0.060	-0.4241215	0.54412151	0.9996576
dose7-dose6	-0.128	-0.6121215	0.35612151	0.9784828

VI.1. Effet du Nitrate d'uranyle sur la cinétique de l'élongation aérienne des graines de *Cleome amblyocarpa*

Tableau de significatif :

	Df	Sq Mean	Sq F	F value	Pr(>F)	*
Uranium	6	87500	14583	2.274	0.0403	
Résiduels	133	853125	6414			

La corrélation entre les doses :

Uranium	Diff	Lwr	Upr	P adj
100-0	25.0	-50.827886	100.82789	0.9560165
150-0	37.5	-38.327886	113.32789	0.7558009
200-0	50.0	-25.827886	125.82789	0.4359298
250-0	62.5	-13.327886	138.32789	0.1797017
300-0	75.0	-0.827886	150.82789	0.0546317
50-0	12.5	-63.327886	88.32789	0.9989034
150-100	12.5	-63.327886	88.32789	0.9989034
200-100	25.0	-50.827886	100.82789	0.9560165
250-100	37.5	-38.327886	113.32789	0.7558009
300-100	50.0	25.827886	125.82789	0.4359298
50-100	-12.5	-88.327886	63.32789	0.9989034
200-150	12.5	-63.327886	88.32789	0.9989034
250-150	25.0	-50.827886	100.82789	0.9560165
300-150	37.5	-38.327886	113.32789	0.7558009
50-150	-25.0	-100.827886	50.82789	0.9560165
250-200	12.5	-63.327886	88.32789	0.9989034
300-200	25.0	-50.827886	100.82789	0.9560165
50-200	-37.5	-113.327886	38.32789	0.7558009
300-250	12.5	-63.327886	88.32789	0.9989034
50-250	-50.0	-125.827886	25.82789	0.4359298
50-300	-62.5	-138.327886	13.32789	0.1797017

VI.2. Effet du Nitrate d'uranyle sur la longueur des racicules des plantules de *Cleome Amblyocarpa*

Tableau de significatif :

	Df	Sq Mean	Sq F	F value	Pr(>F)	
Uranium	6	4.444	0.7407	10.59	3.84e-06	***
Résiduels	28	1.958	0.0699			

La corrélation entre les doses :

Uranium	Diff	Lwr	Upr	P adj
dose2-dose1	-0.304	-0.8345172	0.22651716	0.5477946
dose3-dose1	-0.628	-1.1585172	-0.09748284	0.0125787
dose4-dose1	-0.616	-1.1465172	-0.08548284	0.0150082
dose5-dose1	-0.984	-1.5145172	-0.45348284	0.0000471
dose6-dose1	-1.014	-1.5445172	-0.48348284	0.0000292
dose7-dose1	-0.968	-1.4985172	-0.43748284	0.0000607
dose3-dose2	-0.324	-0.8545172	0.20651716	0.4740929
dose4-dose2	-0.312	-0.8425172	0.21851716	0.5180197
dose5-dose2	-0.680	-1.2105172	-0.14948284	0.0057569
dose6-dose2	-0.710	-1.2405172	-0.17948284	0.0036310
dose7-dose2	-0.664	-1.1945172	-0.13348284	0.0073409
dose4-dose3	0.012	-0.5185172	0.54251716	1.0000000
dose5-dose3	-0.356	-0.8865172	0.17451716	0.3643673
dose6-dose3	-0.386	-0.9165172	0.14451716	0.2753652
dose7-dose3	-0.340	-0.8705172	0.19051716	0.4176183
dose5-dose4	-0.368	-0.8985172	0.16251716	0.3269580
dose6-dose4	-0.398	-0.9285172	0.52812151	0.2441370
dose7-dose4	-0.352	-0.8825172	0.17851716	0.3773368
dose6-dose5	-0.030	-0.5605172	0.50051716	0.9999966
dose7-dose5	0.016	-0.5145172	0.54651716	0.9999999
dose7-dose6	0.046	-0.4845172	0.57651716	0.9999573

VI.2. Effet du Nitrate d'uranyle sur la cinétique de la longueur des racines des graines de *Cleome amblyocarpa*

Tableau de significatif :

	Df	Sq Mean	Sq F	F value	Pr(>F)	*
Uranium	6	87520	14587	2.278	0.0399	
Résiduels	133	851769	6404			

La corrélation entre les doses :

Uranium	Diff	Lwr	Upr	P adj
100-0	25.0515	-50.716079	100.81908	0.9554115
150-0	37.5095	-38.258079	113.27708	0.7558009
200-0	50.0085	-25.759079	125.77608	0.4347155
250-0	62.5550	-13.212579	138.32258	0.1781319
300-0	75.0065	-0.761079	150.77408	0.0542483
50-0	12.5235	-63.244079	88.29108	0.9988866
150-100	12.4580	-63.309579	88.22558	0.9989193
200-100	24.9570	-50.810579	100.72458	0.9562112
250-100	37.5035	-38.264079	113.27108	0.7550309
300-100	49.9550	-25.812579	125.72258	0.4360616
50-100	-12.5280	-88.295579	63.23958	0.9988843
200-150	12.4990	-63.268579	88.26658	0.9988989
250-150	25.0455	-50.722079	100.81308	0.9554626
300-150	37.4970	-38.270579	113.26458	0.7551812
50-150	-24.9860	-100.753579	50.78158	0.9559669
250-200	12.5465	-63.221079	88.31408	0.9988750
300-200	24.9980	-50.769579	100.76558	0.9558655
50-200	-37.4850	-113.252579	38.28258	0.7554585
300-250	12.4515	-63.316079	88.21908	0.9989225
50-250	-50.0315	-125.799079	25.73608	0.4341373
50-300	-62.4830	-138.250579	13.28458	0.1792102