



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



Département de Biologie
Laboratoire de recherche
Biodiversité et Conservation des Eaux et des Sols

Mémoire
Présenté par
BENNAOUM Aicha

En vue de l'obtention du diplôme de **MASTER**
En Phytotechnologie Appliquée Aux Sols Pollués.

Intitulé

Phyto-extraction du plomb par le radis
(Raphanus sativus L.)

Soutenu en Juin 2017 devant le jury composé de :

CHIBANI Abdelwahab. Pr	Président	Université de Mostaganem
REGUIEG Yssaad Houcine Abdelhakim. Pr	Encadreur	Université de Mostaganem
BELARBI Amaria. MCB	Examineur	Université de Mostaganem
GHAMNIA Youcef. MAB	Examineur	Université de Mostaganem

Année universitaire : 2016-2017

Résumé

À l'heure actuelle, la pollution des sols est l'un des problèmes environnementaux le plus délicat et souvent la phytoremédiation lui est associée comme procédé de décontamination. Dans ce contexte, le présent travail, réalisé au laboratoire « biodiversité et conservation des eaux et des sols » de l'Université de Mostaganem, était d'examiner les effets de stress du plomb sur les plantes. L'objectif étant la détermination du potentiel d'accumulation du plomb par le radis (*Raphanus sativus L.*), afin de se prononcer sur sa capacité de décontamination des sols. La plante du radis (*Raphanus sativus L.*) a été exposée à différentes concentrations de plomb (0, 500, 1000 et 2000 ppm). Le radis a été irrigué régulièrement avec une solution nutritive de Hoahland (1938). L'expérimentation *ex situ* a été entreprise durant deux mois, incluant la germination et la croissance du radis.

L'analyse biométrique après l'exposition au plomb a montré une inhibition de la partie supérieure de la plante et des racines, les masses de matière fraîche et sèche de différents organes du radis par rapport aux témoins. L'analyse hydrique de l'exposition au plomb a montré une augmentation de la teneur relative en eau (RWC) de la plante par rapport aux témoins. Alors que la perte d'eau par transpiration (RWL) de la plante diminue par rapport aux témoins. L'analyse physiologique a montré une diminution de la teneur en pigments chlorophylliens foliaires (chlorophylle a, b et totale) et des teneurs en caroténoïdes des plantes du radis exposé au plomb à différentes concentrations, par rapport au témoin.

Les résultats obtenus montrent que le plomb induit un stress chez le radis (*Raphanus sativus L.*) au cours de sa croissance par rapport aux témoins, mais cette plante possède des mécanismes de protection lui permettant de tolérer cet excès en plomb. Cette plante peut être utilisée dans un système de dépollution des sols car elle possède des propriétés particulières de résistance naturelle à de nombreuses contraintes abiotiques.

Mots clés : Stress métallique, radis, *Raphanus sativus L.*, plomb, métaux lourds, phytoremédiation.

Abstract

*Nowadays, the soil pollution is one of the most sensitive environmental problems and often the phytoremediation is associated with him as process of decontamination. With respect to this, the present work, realized in the laboratory "biodiversity and preservation of waters and soils"/University of Mostaganem, was focused on the stress effects of the lead on plants. The objective was to determinate the accumulation potential of lead by the radish (*Raphanus sativus* L.) and to find out how is its capacity of soil decontamination. The radish plant was exposed to various lead concentrations (0, 500, 1000 and on 2000 ppm). The experiment *ex situ* was undertaken during two months, including the seeding and the growth of the radish.*

The biometric analysis after the exposure to lead showed an inhibition of the top of the plant and the roots, and in the weight of fresh substance and dry one of different parts of the radish with regard to the reference sample. The water content analysis of the exposed plants to lead showed an increase of the relative water content (RWC) compared with the reference sample while the loss of water by transpiration (RWL) decreases. The physiological analysis showed a decrease of the content in foliar chlorophylls' pigments (chlorophyll a, b and total) and contents in carotenoids of the radish exposed to lead with different concentrations, compared with the reference sample.

*The investigation results show that lead causes a stress on the radish (*Raphanus sativus* L.) during its growth, but this plant possesses mechanisms of protection allowing it a certain tolerance to lead excess. This plant can be used in a system of soil remediation because it possesses particular properties of natural resistance with several abiotical constraints.*

Keywords: *Metallic Stress, radish, *Raphanus sativus* L., lead, heavy metals, phytoremediation.*

تلخيص

الحديد عنصر اساسي في نمو النباتات بسبب دوره الهام في فيزيولوجيا النباتات ولكنه يعتبر أيضا من المعادن الثقيلة. السامة بتراكيز عالية. بعض الانواع التي تنمو في مناطق بها تراكيز عالية من النحاس لها آليات حماية تسمح لها على تحمل هذا الفائض. الهدف من هذا العمل هو دراسة قدرة نبات "الفجل" (*Raphanus sativus L*) في علاج التربة الملوثة بالمعادن الثقيلة الحديد. تخص الدراسة في تعريض نبات "الفجل" (*Raphanus sativus L*) الى تراكيز مختلفة من الحديد (0, 500, 1000, 2000 جزء في المليون) لمدة اسبوعين وهذا بعد اسبوع من الانبات وخمسة اسابيع من الزرع. وقد أظهرت التحاليل الفيزيولوجية للنباتات المعرضة للحديد انخفاض منطقة الأوراق والجذور, وكتلة المادة الحية والجافة للنباتات ونقص في كمية صانعات الخضراء (اليخضور أ، ب، الكلي) مقارنة مع الشواهد. كما أظهرت تحاليل المياه إلى زيادة في المحتوى النسبي للمياه (RWC) لنباتات الفجل المعرضة للحديد مقارنة مع الشواهد, في حين أن فقدان الماء عن طريق النتح (RWL) لنباتات الفجل ينخفض مقارنة مع الشواهد. وقد أظهرت التحاليل انخفاض في محتوى الكروتينويد لنباتات الفجل المعرضة للحديد بتركيزات مختلفة مقارنة مع الشاهد. وتشير هذه التعليمات الفيزيولوجية, و المورفوفيزيولوجية بأن الحديد انجم اجهاد لدى نبات الفجل (*Raphanus sativus L*) أثناء نموه مقارنة مع الشواهد, ولكن الفجل لديه آليات حماية التي من شأنها أن تسمح له بتحمل هذا الفائض من الحديد.

الكلمات الأساسية: تأثير الحديد ، الفجل ، *Raphanus sativus L*، الحديد ، المعادن الثقيلة. ، phytoremediation .

Remerciements

*En premier lieu, je tiens à remercier **Dieu**, pour le courage, la patience et la bonne santé qu'il m'a donné afin de mener ce projet à terme.*

Je souhaiterais remercier toutes les personnes qui m'ont aidé durant le déroulement de mon projet.

Tout d'abord, je souhaiterais remercier M. REGUIEG Yssaad Houcine Abdelhakim professeur responsable de notre master, pour son aide durant tout l'avancement du projet, pour sa pédagogie, ses précieux..

Je souhaiterais également remercier l'ensemble du personnel du laboratoire, mais tout particulièrement MORTET Ahmed, pour m'avoir assistée durant toutes les manipulations, m'avoir expliqué le fonctionnement des appareils et pris le temps de me conseiller.

Je remercie M.GHAMNIYA Youcef. Pour m'avoir accepté de faire partie de mon jury et d'en être l'examineur. Je tiens également à lui exprimer toute ma reconnaissance pour l'attention qu'il a porté à ce travail.

Merci à Mme NEGGAS Nour, doctorante, qui m'a procuré les graines du Radis que j'ai étudiées durant ce projet.

Je remercie Professeur REGUIEG Yssaad Houcine Abdelhakim pour m'avoir donné l'accès à la serre de physiologie végétale et au laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols.

Je remercie M. CHIBANI Abdelwahab, professeur à l'université de Mostaganem d'avoir accepté de présider le jury de thèse.

J'exprime également ma reconnaissance à Mme BELARBI Amaria maitre de conférences à l'Université de Mostaganem d'avoir bien voulu apporter sa contribution pour jurer ce travail.

LIST DES ABREVIATIONS

ETM Eléments Trace Métallique

MF matière fraîche.

mg milligramme.

µg /g microgramme/gramme.

ml millilitre.

mn minute.

N° numéro.

nm nanomètre.

Pb Plomb

ppm : parties par million (équivalent à du mg/L)

R. répétition

RWC Relative water content, contenu relatif en eau

RWL Perte d'eau par transpiration..

S. stress.

T. témoin.

.

LISTE DES TABLEAUX

Tab. 1	Classification des oligo-éléments et contaminants stricts chez l'homme Et chez les plantes supérieures	4
Tab. 2	Voie d'exposition au plomb chez l'homme.....	8
Tab. 3	Caractéristiques des différentes Techniques utilisées en phytoremédiation.....	20
Tab. 4	Composition chimique de la solution Hoagland.....	32
Tab. 5	Valeurs de la longueur des parties aériennes et racinaires du radis.....	40
Tab. 6	Valeur de la matière fraîche et sèche du radis.....	41
Tab. 7	Valeur de la teneur relative en eau du radis (RWC).....	42
Tab. 8	Valeur de la perte d'eau par transpiration du radis (RWL)	42
Tab. 9	Teneur en chlorophylle a du radis.....	44
Tab. 10	Teneur en chlorophylle b du radis	45
Tab. 11	Teneur en chlorophylle totale du radis	46
Tab. 12	Teneur en caroténoïdes du radis	47

LISTE DES FIGURES

Fig. 1	Origine des métaux dans le sol	5
Fig. 2	Trajet des éléments métalliques de la surface des racines jusqu'au cylindre central Par voie apoplastique et voie symplastique	14
Fig. 3	Principales techniques de la phytoremédiation.....	18
Fig. 4	Effets de l'implantation d'un couvert végétal sur un sol contaminé	22
Fig. 5	Plante de radis (<i>Raphanus sativus L.</i>).....	24
Fig. 6	Site d'expérimentation de Mazargran	27
Fig. 7	Vue aérienne de la ferme de Mazargran	28
Fig. 8	Méthodes de préparation du substrat de culture	29
Fig. 9	Étapes du remplissage des pots par le substrat	30
Fig. 10	Graines et plantules du radis (<i>Raphanus sativus L.</i>).....	31
Fig. 11	Repiquage des plantules du radis (<i>Raphanus sativus L.</i>).....	31
Fig. 12	Dispositifs expérimental du radis (<i>Raphanus sativus L.</i>)	33
Fig. 13	Démontage des plantes de radis (<i>Raphanus sativus L.</i>).....	33
Fig. 14	Étude des paramètres biométriques	35
Fig. 15	Taches jaunes sur les feuilles des plantes intoxiquées.....	38
Fig. 16	Taches brunes sur les tubercules des plantes intoxiquées	39

SOMMAIRE

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique.	
I. Les métaux lourds.....	3
I.1. Généralités sur les métaux lourds.....	3
I.2. Définition des métaux lourds	3
I.3. Origine de la contamination des sols	4
I.3.1. Origines naturelles	5
I.3.2. Origines anthropiques	5
I.4. Origines de pollution par le plomb	6
I.5. Toxicité du plomb pour l'homme	7
I.5.1. Voies d'exposition	7
I.5.2. Effets toxiques chez l'homme.....	8
I.6. Plomb dans le compartiment sol-plante	9
I.6.1. Plomb dans le sol	9
I.6.2. Plomb dans la plante	10
I.6.2.1. Absorption du plomb par la plante.....	11
I.6.2.2. Mécanismes d'absorption racinaire.....	12
I.6.2.3. Transfert du plomb des racines vers les parties aériennes	15
I.6.3. Impact du plomb sur les végétaux.....	15
Chapitre II : La phytoremédiation	16
II.1. Nécessité de la dépollution	16
II.2. Concept de la phytoremédiation	16
II.3. Définition et techniques de phytoremédiation	17
II.3.1. Phytostabilisation	18
II.3.2. Phytodégradation.....	18
II.3.3. Rhésofiltration.....	19
II.3.4. Phytoextraction	19
II.3.5. Phytovolatilisation.....	19
II.4. Avantages et limites de la technique de phytoremédiation.....	21
II.5. Implantation d'espèces tolérantes	21
Chapitre III : Généralités sur l'espèce expérimentée le radis (<i>Raphanus sativus L.</i>).....	23
III. 1. Présentation de la plante.....	23
III.2. Description	23
III.3. Classification.....	24
III.4. Origine.....	25
III:5. Techniques culturales et entretien du radis	25
III.6. Composition du radis (<i>Raphanus sativus L.</i>)	25
III.6.1. Valeur nutritive	25
III.6.2. Principes actifs et antioxydants.....	26

Chapitre IV : Matériel et Méthodes.....	27
IV.1. Site experimental	27
IV.2. Conditions de culture	29
IV.2.1. Préparation du substrat de culture.....	29
IV.2.2. Préparation des pots et remplissage du sable.....	29
IV.3. Matériel vegetal	30
IV.3.1. Choix de l'espèce végétale	30
IV.3.2. Germination	30
IV.3.3. Repiquage	31
IV.3.4. Préparation des solutions d'arrosage	31
IV.4. Récolte et preparation des analyses ultérieures	33
IV.4.1. Récolte des plantes	33
IV.5. Paramètres étudiés	34
IV.5.1. Paramètres biometriques.....	34
IV.5.1.1. Hauteur de la partie aérienne	34
IV.5.1.2. Mesure du poids frais et du poids sec	35
IV.5.1.3. Mesure de la hauteur des plantes	34
IV.5.2. Paramètres hydriques et physiologiques.....	35
IV.5.2.1. Teneur relative en eau (RWC).....	35
IV.5.2.2. Perte d'eau par transpiration (RWL)	35
IV.6. Analyses statistiques.....	37
Chapitre V : Résultats et Discussion	38
V.1. Effets du plomb sur les paramètres morphologiques.....	38
V.2. Effets du plomb sur les paramètres biometriques.....	39
V.2.1. Effets du plomb sur les la partie aérienne et souterraine	39
V.2.2. Effets du plomb sur le poids frais et poids sec (biomasse).....	40
V.3. Effets du plomb au niveau des paramètres physiologiques	42
V.3.1. Effets du plomb sur la teneur relative en eau (RWC)	42
V.3.2. Effets du plomb sur la perte d'eau par transpiration (RWL)	43
V.4. Effets du plomb sur la teneur en pigments chlorophylliens foliaires	44
V.4.1. Teneur en chrophylle a	44
V.4.2. Teneur en chrophylle b	45
V.4.3. Teneur en chrophylle totale	46
V.4.4. Effets du plomb sur la teneur en carotenoids	47
Discussion	49
1. Effets du plomb sur les paramètres morphologiques et biométriques	49
2. Effets du plomb sur les paramètres physiologiques	50
3. Effets du plomb sur la teneur en pigments chlorophylliens foliaires	50
Conclusion et Perspectives.....	52

Introduction

Avec le développement des activités industrielles, la teneur en métaux lourds dans l'environnement a nettement augmenté et sous différentes formes, à savoir gazeuse, dissoute ou de particules liées. 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**).

Un des problèmes majeurs en environnement est la contamination de l'atmosphère, des eaux et des sols par de nombreux éléments et composés toxiques comme le plomb. Ces contaminations découlent, dans leur immense majorité, des activités humaines. L'exploitation de divers types de gisements en sous sol aboutit à l'accumulation de plomb en surface. A ceci s'ajoute la pollution due aux rejets industriels atmosphériques ou solides contenant du plomb. Ainsi les sols, l'air et les eaux sont concernés. Chez l'homme, l'intoxication par le plomb provoque le saturnisme, une maladie aux conséquences graves (**Brunet, 2008**).

Ces trente dernières années, de nombreux chercheurs se sont intéressés à l'impact du plomb sur les végétaux, les zones proches d'industries métallurgiques, d'usines de recyclage ou de mines de plomb où les retombées atmosphériques de ce métal peuvent être importantes.

Le plomb étant un élément relativement stable dans le sol, seule une faible proportion y est disponible pour les plantes (**Jopony et Young, 1994**). En fonction des conditions du milieu, les plantes peuvent absorber une partie du plomb présente dans le sol.

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

Les sols sont des ressources limitées et considérées comme non renouvelables à

l'échelle humaine. Aujourd'hui, ce patrimoine est menacé à la fois par l'héritage du passé et par l'extension des surfaces consacrées au développement industriel et urbain. Les sols ne sont pas isolés, ils font partie de l'écosystème (**Jenny, 1980**). L'accumulation, dans les sols, des métaux lourds qui sont par nature non dégradables et potentiellement toxiques, augmente le risque d'exposition des êtres vivants : microorganismes, plantes, animaux, et l'homme, qui se situe en fin de la chaîne alimentaire.

Le présent travail s'est centré sur les effets de la pollution au plomb sur la plante de radis (*Raphanus sativus L.*) ; une plante qui tolère ce métal (**Liu et al., 2000**) et qui est considérée comme un modèle en éco-toxicologie (**Sun et al., 2010**), et les relations qui existent entre le stress métallique et les effets observés. L'étude a porté d'une part sur les effets du stress provoqué par le plomb sur une durée d'exposition de deux semaines, les paramètres physiologiques et morpho-physiologiques, et d'autre part sur la détermination du potentiel phytoremédiateur.

Ce mémoire se compose de quatre parties :

- La première partie présente une synthèse bibliographique qui retrace des connaissances sur la pollution par le plomb, son impact sur les êtres vivants et son transfert dans le système sol-plante, les effets du plomb sur les plantes et renferme aussi des notions sur la phytoremédiation et des données générales sur l'espèce étudiée.
- Une deuxième partie matériel et méthodes où sont décrits le matériel biologique utilisé, le protocole expérimental et les différentes techniques d'analyse.
- La troisième partie présente les résultats obtenus et la discussion de ces derniers.
- La quatrième partie du manuscrit est la conclusion et les perspectives.

Chapitre I. Les 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/cm^3 (**Adriano, 2001**).

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 1**).

Tab. 1 : 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 (**Fig. 1**). Les métaux lourds comme le plomb, le cadmium, le cuivre et le mercure ne peuvent pas être biodégradés et donc persistent pendant de longues périodes dans le sol ; ce qui constitue un sérieux problème (**Robert et Juste, 1999**).

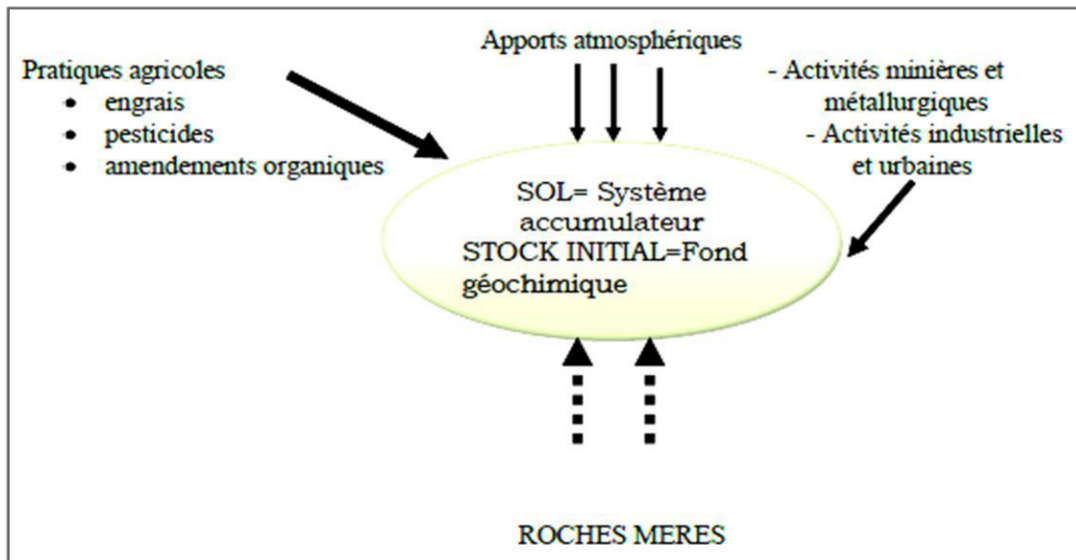


Fig. 1 : Origines des métaux lourds dans le sol (Robert et Juste, 1999).

I.3.1. Origines naturelles

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

I.3.2. Origines anthropiques

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

➤ Les apports en métaux lourds peuvent venir de l'agriculture de par les impuretés présentes dans les engrais, les amendements calcaires, les fumiers, les lisiers (Franklin *et al.*, 2005). Ces apports peuvent aussi résulter d'une activité urbaine, industrielle (déchets d'entreprises agro-alimentaires, boues de stations d'épuration, composts, déchets

urbains) ou minière. Selon IFEN (2002), l'épandage de déchets urbains contribue à augmenter de 7% le Cd (soit 68 tonnes/an), 5% le Cu (soit 5.300 tonnes/an), 28% le Zn (soit 3.200 tonnes/an) et 3% le Pb (soit 8.300 tonnes/an) dans les sols en France.

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

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

I.4. Origines de la pollution par le plomb

Le plomb retrouvé dans l'environnement provient à la fois de sources naturelles et anthropiques. Le métal est présent dans le sol, eau et air.

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

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

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

CITEPA traitement OPECST).

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

I.5. Toxicité du plomb pour l'homme

De nombreuses utilisations historiques du plomb ou de ses composés sont désormais proscrites en raison de la toxicité du plomb. Mais il reste largement présent dans les sols, les logements anciens et insalubres ainsi que dans certains produits domestiques (peintures, vernis, canalisations...).

Les métaux lourds ont des effets toxiques sur tous les organismes vivants (humains, animaux, végétaux, microorganismes). Les métaux qui contaminent les sols et les aliments peuvent s'accumuler dans ces organismes, tout au long de la chaîne alimentaire (**Brunet, 2008**).

I.5.1. Voies d'exposition

Les différentes voies de pénétration du plomb sont résumées dans le tableau 3. Chez l'adulte, la voie de pénétration majoritaire est l'inhalation de particules, alors que chez l'enfant, c'est plutôt l'ingestion par voie orale. La consommation d'eau passant par des canalisations en plomb peut également être responsable de l'ingestion de plomb. Plus rarement, le plomb peut pénétrer par voie cutanée, notamment par contact avec des crèmes contenant du plomb.

Tab. 2 : Voie d'exposition au plomb chez l'homme (**BRGM, 2004**).

Alimentation	Ingestion	Plantes contaminées par des retombées atmosphériques et/ou accumulation depuis le sol Gibier Stockage des aliments
Poussières	Inhalation	Poussières fines Fumées de cigarettes Emissions automobiles

Peintures	Ingestion Inhalation	Ecaillés de peintures anciennes Poussières de peinture lors des travaux de rénovation Ingestion de sol par les jeunes enfants (pica)
		Métallurgie du plomb
		Fabrication d'accumulateurs et de batteries
		Récupération des métaux
Activité		Soudure
Professionnelle/ Loisirs	Inhalation	Décapage des vieilles peintures
		Manipulation de pigments
		Poussières
		Activité de poteries, imprimerie artisanale...

I.5.2. Effets toxiques chez l'homme

Le plomb se diffuse rapidement vers les différents organes comme le cerveau, les dents, les os, par la circulation sanguine. La demi-vie du plomb dans les tissus mous et dans le sang est de 30 jours environ, mais elle passe de 1 à 10 ans dans les os. L'élimination du plomb se fait majoritairement par les urines, puis par les fèces, la salive et la sueur, et enfin par les ongles et les cheveux (**Pichard, 2002**).

Le plomb a de nombreux effets toxiques sur la santé, qui sont basés sur les niveaux de plomb dans le sang ou plombémie sanguine. En effet, il est responsable du saturnisme en cas d'exposition chronique. Il peut provoquer une grande fatigue, des troubles du comportement, de la mémoire, du sommeil, des systèmes immunitaires et reproducteurs, mais ses principaux organes cibles sont le système nerveux, les reins et le sang. En bloquant plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine, il entraîne une diminution du nombre de globules rouges et une anémie. De plus, le plomb passe facilement la barrière placentaire par diffusion, d'où un risque d'exposition prénatale.

Le métabolisme du plomb est important à connaître pour comprendre certains aspects de l'intoxication et plus particulièrement les différences existant entre enfant et adulte, ou

encore chez la femme enceinte et le fœtus. Il importe d'évaluer les différentes phases de ce métabolisme de l'absorption à l'élimination en passant par les mécanismes de transfert dans les différents tissus et le stockage dans certains organes, pour en tirer des réponses quant à l'évaluation des risques et la surveillance biologique des personnes exposées. (cecchi, 2008).

I.6. Le plomb dans le compartiment sol-plante

I.6.1. Le plomb dans le sol

➤ Origines et comportement du plomb dans le sol

Le plomb est un élément minéral naturellement présent dans la croûte terrestre, en général à de faibles teneurs, son origine dans les sols étant liée à sa présence dans la roche mère. Ceci peut cependant conduire parfois à des teneurs sensiblement plus élevées dans certains gisements. Mais, ce sont surtout les dépôts continus de métaux et métalloïdes par les activités humaines qui ont conduit à leur accumulation dans les différents compartiments de l'environnement. Ceci surtout au voisinage des centres urbains et industriels, mais également dans des zones plus reculées.

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

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

configuration des associations du plomb avec les différents constituants du sol.

➤ **Mobilité du plomb dans le sol**

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

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

I.6.2. Le plomb dans la plante

➤ **Phytodisponibilité**

La notion de phytodisponibilité découle directement de la notion de biodisponibilité définie comme « l'aptitude d'un élément à être transféré d'un compartiment du sol vers un organisme vivant (bactérie, végétal, animal, homme) » **(Baize, 1997)**. Ainsi, selon **(Hinsinger et al., 2005)**, est biodisponible pour une plante (phytodisponible), la fraction d'un élément susceptible d'être absorbée par les racines.

La phytodisponibilité des ETM est fortement corrélée à la concentration d'espèces ioniques dans la solution du sol **(Kabata-Pendias et Pendias, 1992)**. Elle est également largement dépendante des propriétés du sol, de l'espèce végétale considérée et de l'élément en question. La phytodisponibilité va donc dépendre des différents paramètres permettant le transfert de la phase solide du sol vers le végétal **(Hinsinger et al., 2005)** :

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

I.6.2.1. Absorption du plomb par la plante

Les plantes peuvent absorber du plomb à partir des racines, mais également à partir des organes aériens, ou bien par l'intermédiaire des deux. Les quantités de métal absorbées par les racines dépendent de la concentration et de la solubilité du métal dans la solution du sol, mais également de ses capacités de migration du sol vers la surface des racines, et de sa translocation des racines vers les feuilles. (Patra *et al.*, 2004 ; Zheng *et al.*, 2011).

➤ L'absorption foliaire

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

➤ Mécanismes d'adsorption sur les racines

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

La formation de plaques d'oxydes et d'hydroxydes de fer à la surface racinaire est assez courante. Du fait de leur capacité à adsorber de grandes quantités de métaux, ces plaques limitent la pénétration des métaux dans la racine (**Otte et al., 1987**). Cependant, dans le cas du plomb, ces plaques semblent jouer un rôle de barrière physique moins important que pour d'autres métaux (**Ye et al., 1998**).

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

I.6.2.2. Mécanismes d'absorption racinaire

Du fait des risques de contamination de la chaîne alimentaire par le plomb, L'absorption racinaire a fait l'objet de nombreuses recherches sur diverses espèces végétales. De ce fait, ces études ont porté essentiellement sur les céréales, comme l'orge et le blé (**Tanton et Crowdy, 1971**), le maïs (**Tung et Temple, 1996**), ou les légumes, comme la laitue (**Glater et Hernandez, 1972**), le radis (**Lane et Martin, 1977**) et l'oignon (**Wierzbicka, 1987**).

Ces travaux ont révélé que le plomb, après s'être fixé au rhizoderme, pénètre dans le système racinaire de façon passive et suivait le système de conduction de l'eau. Cette absorption n'est pas uniforme le long de la racine, puisqu'il existe un gradient de concentration en plomb dans les tissus à partir de l'apex, qui est la zone la plus concentrée (**Tung et Temple, 1996; Seregin et al., 2004**). Les tissus jeunes, et en particulier la zone apicale (en dehors de la coiffe) où les cellules possèdent des parois encore fines, sont les zones absorbant le plus de plomb (**Wierzbicka, 1987 ; Seregin et al., 2004**). Cette région apicale correspond également à la zone où le pH rhizosphérique est le plus bas. Ce pH bas favorise la solubilité du métal et conduit à une élévation locale de la concentration en plomb dans la solution du sol.

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

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

I.6.2.2.1. Les voies d'absorption racinaire du plomb

Cette absorption peut se faire de plusieurs manières. Soit la pénétration grâce à un transport actif interne par le symplaste (cytoplasmes des cellules reliés entre eux par les plasmodesmes), ou bien par voie passive ou apoplastique, c'est-à-dire par un transport dans les espaces intercellulaires (ou espaces libres apparents) (figure 2).

✓ La voie apoplastique

De nombreuses études histologiques ont permis de montrer que le plomb était transporté essentiellement dans l'apoplaste, (Fig. 2) et qu'il suivait les mouvements d'eau à l'intérieur de la plante (Tanton et Crowdy, 1971 ; Lane et Martin, 1977).

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

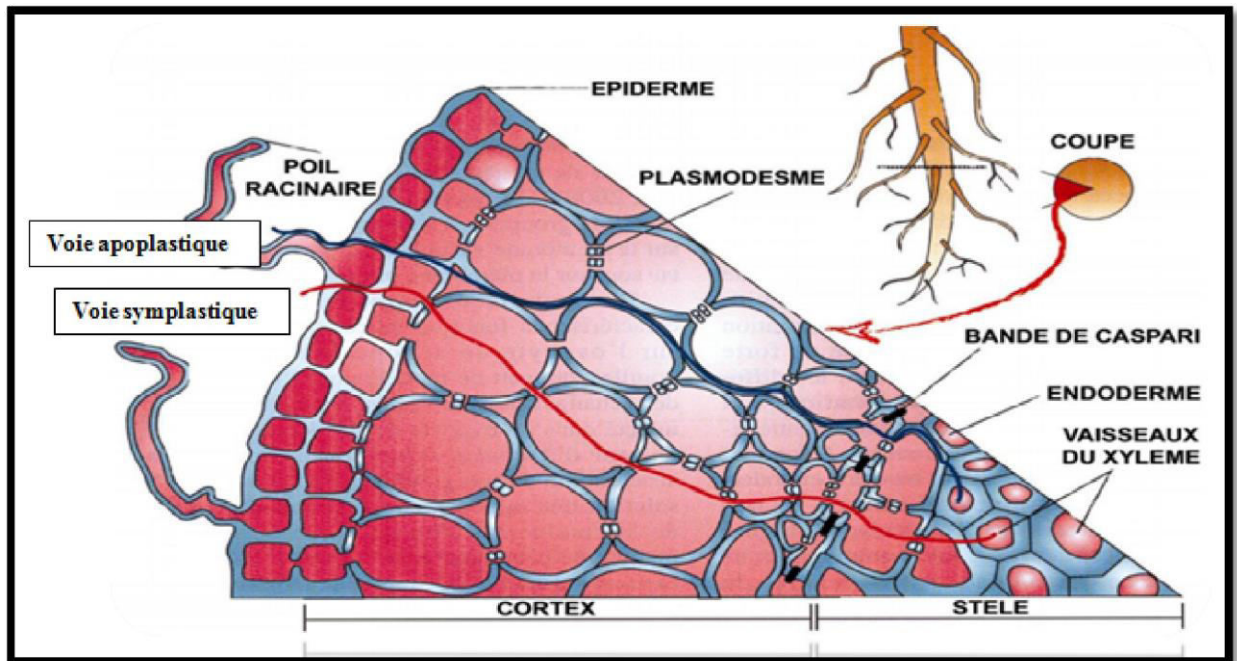


Fig.2 : Trajet des éléments métalliques de la surface des racines jusqu' au cylindre central par voie apoplastique (en bleu) et voie symplastique (en rouge) (Kirpichtchikova, 2009).

✓ La Voie symplastique

La pénétration du plomb dans les racines par cette voie se fait grâce à un transport actif interne par le symplaste (cytoplasmes des cellules reliés entre eux par les plasmodesmes). Après avoir traversé la paroi cellulaire, les ions métalliques atteignent la surface de la membrane plasmique, puis pénètrent dans le symplaste. Ensuite, ces ions métalliques peuvent passer d'une cellule à l'autre en empruntant les plasmodesmes, qui relient les cellules (figure 2).

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

possèdent pas encore de paroi secondaire et leur paroi primaire est très fine.

I.6.2.3. Transfert du plomb des racines vers les parties aériennes

Après l'absorption par les racines, la translocation correspond au transfert des éléments traces métalliques vers les parties aériennes. Elle peut varier considérablement en fonction du métal, mais également de l'espèce végétale. Pour être conduits vers les parties aériennes, les éléments prélevés dans le sol par les racines doivent être transportés dans le cortex puis déversés dans les vaisseaux du xylème (par circulation de la sève brute). Ce flux d'ions métalliques dans le xylème nécessite leur chélation à des acides organiques (tels que le citrate) ou à des acides aminés (comme l'histidine) (**Briat et Lebrun, 1999**).

Pour la plupart des espèces, la majorité du plomb absorbé par les plantes réside dans les racines, et seulement une faible proportion est transloquée vers les parties aériennes. Ce transport limité des racines vers les feuilles peut être expliqué par la barrière formée par l'endoderme des racines. Les bandes de Caspary peuvent en effet être un facteur majeur limitant le franchissement de l'endoderme jusqu'au cylindre central (**Seregin et al, 2004 ; Sharma et Dubey, 2005**). Pour illustrer ce propos, différents auteurs ont défini un facteur de translocation, qui est calculé comme suit (**Mattina et al., 2003 ; Tanhan et al., 2007**).

[Pb] parties aériennes / [Pb] racines

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

I.6.3. Impact du plomb sur les végétaux

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

cas de toxicité avancée (Cecchi, 2008).

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

Chapitre II. Phytoremédiation

II.1. Nécessité de la dépollution

Les risques écotoxicologiques de la contamination par les métaux lourds dans les sols, les ruisseaux et les eaux souterraines sont un grand problème de l'environnement et la santé humaine. 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). 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).

II.2. Concept de La phytoremédiation

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

et Brooks, 1989 ; Salt *et al.*, 1995).

La plante est en effet un système biologique de pompage et de filtration, actionné par le soleil, qui a des capacités inhérentes de chargement, dégradation et engorgement. Les racines peuvent trouver, altérer et « transloquer » ou déplacer des éléments et des composés contre des gradients chimiques importants. Les surfaces des racines supportent des bio-films bactériens actifs et des extensions fongiques qui augmentent significativement la surface de contact avec le sol et les capacités métaboliques de la plante. Au cours de l'évolution, les plantes ont développé des mécanismes pour s'adapter et se multiplier dans des conditions hostiles (Kirpichtchikova, 2009).

Certaines plantes ont adopté des mécanismes racinaires qui permettent d'immobiliser les métaux au niveau des racines et de diminuer leur transfert vers les feuilles où les métaux seraient toxiques. D'autres plantes ont développé des mécanismes complexes pour tolérer, absorber et accumuler dans leurs tissus des quantités significatives de métaux. Les techniques de phytoremédiation apparaissent alors comme des méthodes alternatives ou des méthodes complémentaires aux méthodes conventionnelles, moins coûteuses, plus extensives et plus respectueuses de l'environnement. (Kirpichtchikova, 2009).

II.3. Définition et techniques de phytoremédiation

Connue sous le nom de phytoremédiation « phyto » = plante et « remedium » = rétablissement de l'équilibre, remédiation, la phytoremédiation est définie comme l'utilisation de plantes pour extraire ou transformer les polluants organiques et aussi inorganiques (plus particulièrement les métaux lourds) (Salt *et al.*, 1998). Les aspects technologiques d'efficacité, de coût du traitement et les aspects économiques sont abordés. Les types de stratégies de phytoremédiation, particulièrement utilisés dans la dépollution des métaux lourds sont décrits ci-dessous et illustrés dans la (Fig. 3)

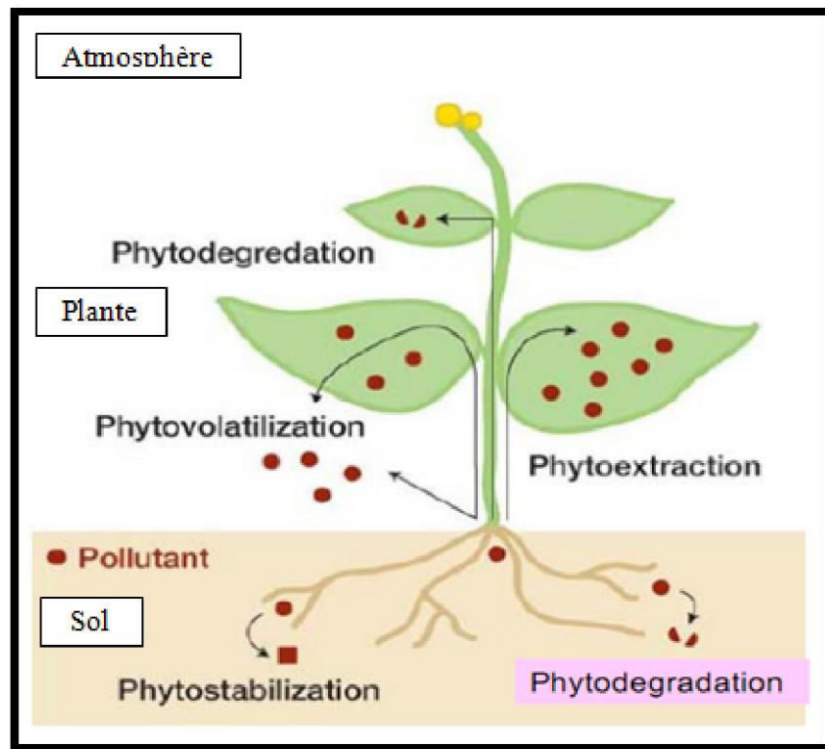


Fig. 3 : Les principales techniques de phytoremédiation (**Pilon-Smits, 2005**).

II. 3.1. Phytostabilisation

C'est l'utilisation des plantes pour réduire la biodisponibilité des polluants par les écoulements (latéraux ou en profondeur) ou immobiliser les composés polluants en les liants chimiquement par précipitation, stabilisation, absorption ou piégeage de ceux-ci par la plante. Par un stockage dans le système racinaire ou l'insolubilisation dans la rhizosphère, Cette technique permet d'éviter la dispersion des polluants dans les eaux de surface et souterraines (**Cunningham *et al.*, 1995**). Et de limiter l'érosion et le lessivage du sol. (**Pilon-Smits, 2005; Remon, 2006**).

II. 3. 2. Phytodégradation ou rhizodégradation

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**).

II. 3. 3. La rhizofiltration

Est l'utilisation des racines des plantes pour extraire les contaminants des eaux. Elle est basée sur la capacité des systèmes racinaires de certains végétaux à prélever et/ou dégrader les polluants dans un milieu liquide. Cette méthode s'applique dans les zones humides, construites ou naturelles, et pour des plantes dont les racines supportent la vie en milieu aquatique et anaérobie (**Chaney et al., 1997 ; Wong., 2003 ; Remon, 2006**). Et pour les composés dangereux, en particulier des métaux lourds ou les radionucléides (**Prasad, 2003**).

II. 3. 4. La Phytoextraction

C'est l'utilisation de végétaux (hyper) accumulateurs qui vont absorber les métaux ou métalloïdes du sol par les racines et les accumuler dans les organes récoltables (feuilles, tiges et racines) (**Mc Grath, 1998**). Les métaux lourds vont se complexer avec des acides organiques ou des acides aminés synthétisés par la plante. Les métaux lourds sont ensuite récupérés en incinérant ou compostant la biomasse de plante (**Remon, 2006**).

II. 3. 5. La Phytovolatilisation

Utilisation de plantes qui absorbent des contaminants organiques et autres produits toxiques, transformant ceux-ci en éléments volatiles peu ou pas toxiques et les relâchant dans l'atmosphère via leurs feuilles (**Mc Grath, 1998**).pour les composés organiques volatils, le Trichloréthylène (TCE), et des inorganiques comme Se ou Hg (**Pilon et Smits, 2005 ; Remon, 2006**).

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

Tab. 3 : Caractéristiques des différentes techniques utilisées en phytoremédiation

	Rhizofiltration	Phytostabilisation	Phytoextraction	Phytovolatilisation	Phytodégradation
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)	Hyperaccumulatrices ou accumulatrices à forte biomasse	Plantes modifiées génétiquement	Tout type de plante hébergeant des rhizobactéries
Avantages	Utilisation <i>in situ</i> et <i>ex situ</i>	Limite le risque de lixiviation et d'érosion Solution rapide	Utilisation <i>in situ</i> Adaptée aux pollutions diffuses	Dilution de la pollution dans l'air Pas de traitement des déchets végétaux	Pas de traitement des déchets végétaux
Inconvénients	Dépend du système racinaire	Dépend du système racinaire N'élimine pas le polluant du sol	Dépend du système racinaire Retraitement des déchets produits	Risque d'exposition atmosphérique non quantifié Utilisation d'OGM	Limite à des polluants facilement dégradables Dépend des rhizobactéries associées
Références	Duschenkov et al., 1995 Raskin et Ensley, 2000. Surarla et al., 2002	Cunningham et berti, 2000 Surarla et al., 2002	Salt et al ., 1995 Baker et brooks, 1989	Banuelos, 2000	Black, 1995

II. 4. Avantages et limites de la technique de phytoremédiation

La technique de phytoextraction présente de nombreux intérêts, d'ordre environnemental et économique. En effet, l'activité biologique et la structure des sols sont maintenues après le traitement. En plus, le coût de la technique est bien moindre que celui de procédés traditionnels *in situ* et *ex situ* et varie selon les contaminants. D'autre part, les plantes permettent de conserver un paysage agréable (reverdissement et floraison), et aussi d'installer une communauté de microflore et de microfaune métallo-résistantes pouvant agir en synergie avec ces plantes afin d'accélérer le processus de décontamination. Les plantes peuvent être facilement surveillées et récoltées à des fins de traitement et la biomasse végétale réutilisée (**Kumar *et al.*, 1995; Blaylock et Huang, 2000; Garbisu et Alkorta, 2001**). D'autre part, les métaux lourds peuvent aussi être récupérés et réutilisés. Enfin, cette technique biologique est facilement acceptée par le public dans le contexte de la préservation de l'environnement, du développement durable, et dans l'aspect esthétiquement plaisant de son application.

II.5. 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. 4).

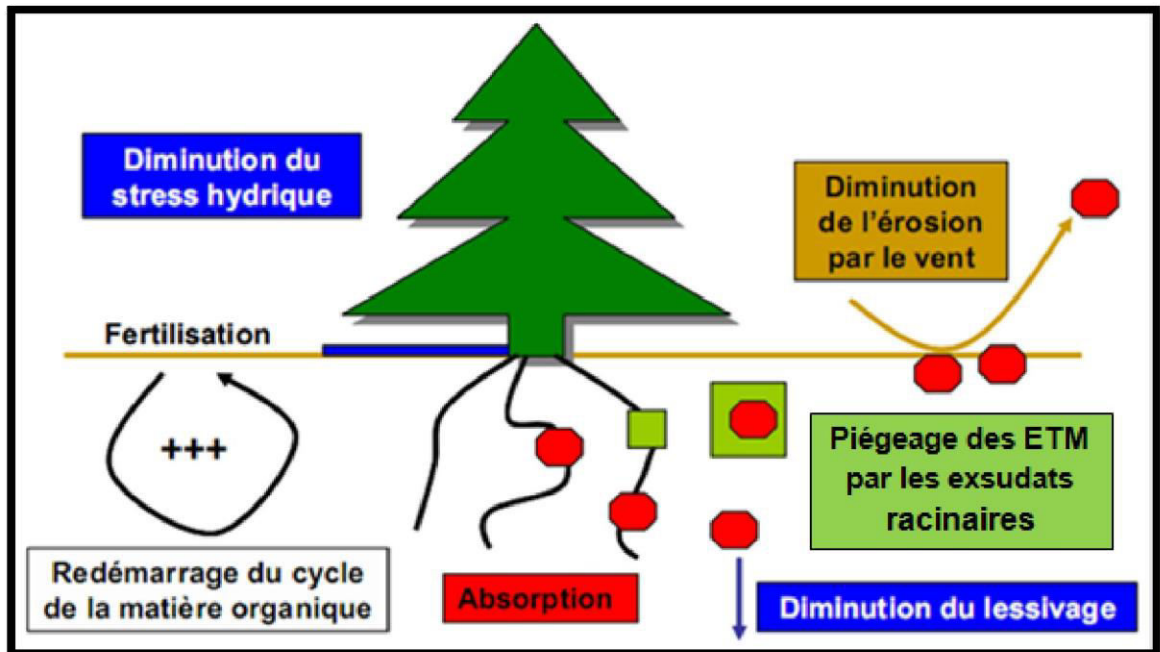


Fig. 4 : Effets de l'implantation d'un couvert végétal sur un sol contaminé (Bes, 2008).

Chapitre III. Généralités sur l'espèce expérimentée le radis (*Raphanus sativus L.*)

III. 1. Présentation de la plante

Le radis, *Raphanus sativus L.* est une plante potagère bisannuelle, de la famille des *Brassicacées*, cultivée depuis très longtemps pour son hypocotyle charnu, consommé cru, comme légume, la partie comestible, une racine pivot avec différentes formes (long, rond) à chair rouge, blanche, noir ou rose-blanche (espèce utilisé dans notre travaille) , est la partie gonflée, souterraine, de la tige, au-dessus de la racine. Le radis (*Raphanus sativus L.*) pourrait dériver de ces formes sauvages de radis (*Raphanus rostratus* ou *Raphanus segetum*) une plante de très ancienne culture (**Schippers, 2004**).

Le radis fait partie, comme le navet et le chou, de la famille des crucifères. Aujourd'hui cette famille est appelée *brassicacées*, nom qui vient de *brassica*, c'est-à-dire du chou. Cela signifie que ses fleurs ont quatre pétales disposés en croix, forme typique des *Brassicaceae* (**Schippers, 2004**).

III. 2. Description

Le radis (*Raphanus sativus L.*) est une racine, globuleuse, renflée-charnue, avec une écorce rose-blanche; Un tissu tendre ou ferme. Est directement surmontée de feuilles velues, plus ou moins grandes, pétiolées profondément lyrées, à lobes oblongs dentelés, dont le terminal est plus grand que les autres , très- rudes. le radis développe une tige haute de 4 à 8 décimètre ramifiée, porteuse de fleurs blanches assez petites, pédonculées à 4 pétales dressés, donnant naissance à des fruits (siliques) type haricot vert court et gonflé oblongues- lancéolé, renflé à la base et non articulées, spongieux à l'intérieur, contenant des graines rouges aplaties logées chacune dans une fossette particulière, arrondies (**Moquin et Tandon, 1866**) (**Fig. 5**).



Fig. 5 : Plante de radis (*Raphanus sativus* L.), aspect des feuilles, des tiges, des fleurs et des gousses (Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France, 2011).

III. 3. Classification systématique

La classification de la plante du radis selon **Cronquist, 1981** est la suivante :

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

III. 4. Origines

Probablement originaire de l'est de la région méditerranéenne, en Asie occidentale. Ce fut l'un des premiers légumes à être cultivés. Des écrits anciens démontrent que le radis (*Raphanus sativus L.*) était consommé il y a environ 4 000 ans par les Babyloniens et les Égyptiens, et était particulièrement apprécié pour ses propriétés médicinales. Il aurait été introduit en Chine environ 500 ans avant notre ère. Les Chinois ont développé de nouvelles variétés de radis, à racine plus grosse et plus longue. Le radis peut maintenant se trouver comme plante cultivée à travers le monde sous de nombreuses formes différentes, allant de petites plantes annuelles feuillues à des bisannuelles à grosses racines charnues (**Schippers, 2004**).

III. 5. Techniques culturales et entretiens du radis

Son nom latin est dérivé du grec *raphanos* signifiant « qui lève facilement », et fait référence au fait que ce légume pousse sans difficulté. Le radis est une plante potagère facile à cultiver, Tous types de sol peuvent accueillir le radis. Optez de préférence pour un sol léger et bien ameubli. Un mélange de terreau sableux avec du compost est l'idéal. Il permet à la racine de bien se développer, le radis aime l'exposition plein soleil ou mi-ombre. Et nécessite un arrosage copieux et régulier. Le cycle de croissance du radis est rapide et le met à l'abri des insectes ravageurs et des maladies ce qui facilite son entretien. Le semis du radis peut s'étaler sur plusieurs mois, et peut être répété à volonté pour obtenir des récoltes à longueur d'année.

La levée apparaît après seulement trois à quatre jours. Pour avoir des graines de radis il suffit de laisser monter les radis qui font de longues tiges puis des fleurs blanches à 4 pétales, chaque fleur fait un fruit type haricot vert court et gonflé (**Schippers, 2004**).

III. 6. Composition du radis « *Raphanus sativus L.* »

III. 6. 1. Valeur nutritive

Peu énergétiques, les radis roses fournissent à peine 15 K calories au 100 g, ce qui les

place parmi les aliments les moins énergétiques, protéines et lipides (graisses) n'étant présents qu'à l'état de traces, ce sont les glucides (2,5 à 3,5 g) qui apportent l'essentiel des calories. Des glucides constitués en majorité par des sucres simples (glucose et fructose).

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

III. 6. 2. Principes actifs et antioxydants

Du fait qu'il est très riche en antioxydants (les anthocyanines, Kaempferol et les Peroxydases...), des chercheurs ont notamment étudié l'effet d'un mélange d'antioxydants du radis chez l'animal pour découvrir qu'il apportait une protection contre l'oxydation des lipides sanguins (un effet favorable à la santé cardiovasculaire), des lipides des cellules intestinales (un effet bénéfique pour la prévention du cancer du côlon) et d'autres maladies liées au vieillissement (**Gendreau, 2006**). Les radis renferment aussi des composés spécifiques, comme les indols, et les gluconisates, capables d'inhiber ou de freiner le développement de tumeurs cancéreuses.

Chapitre IV. Matériel et méthodes

IV.1. Site expérimental

L'essai a été réalisé sous une serre en verre au sein de l'atelier agricole située à Mazagran à 5 Km environ de la ville de Mostaganem, dont les facteurs température, humidité, et vent sont bien contrôlés (Fig. 6).



Fig. 6 : Site d'expérimentation (serre de Mazagran / Université de Mostaganem).

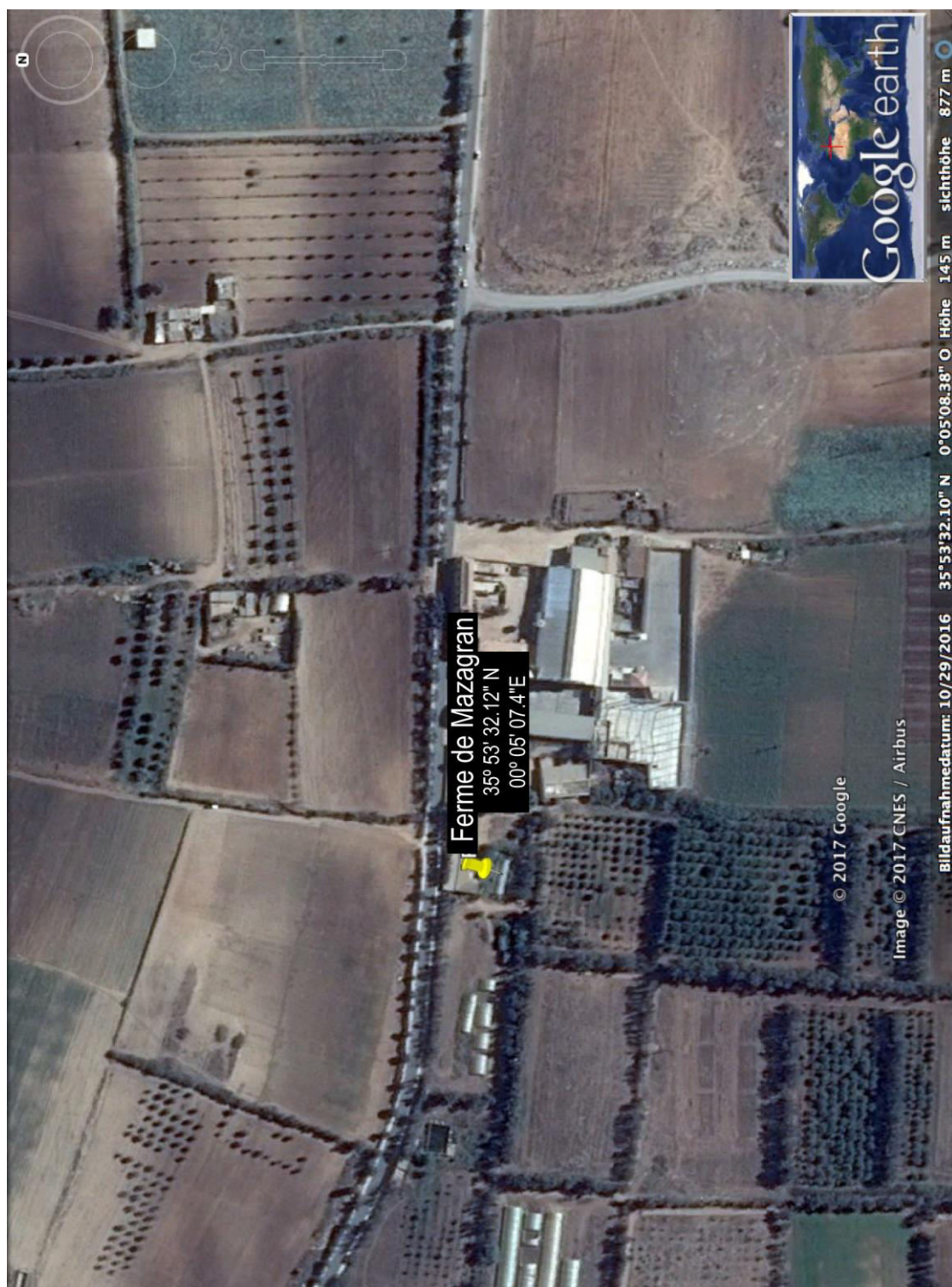


Fig. 7 : Vue aérienne de la Ferme de Mazagran (Serre matérialisée en jaune)
(google earth 2017).

IV.2. Condition de culture

IV.2.1. Préparation du substrat de culture

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

- Un tamisage approprié pour éliminer les débris et les déchets végétaux, animaux et toutes les pierres afin d'obtenir un sable fin et net.
- Des lavages successifs à l'eau ordinaire 3 fois.
- Un traitement à l'esprit de sel pour éliminer les sels, les carbonates, les chlorures...etc.
- Des rinçages répétés à l'eau ordinaire (3 fois) et à l'eau distillée (2 fois) afin de supprimer toute trace de chlore.
- Un test de nitrate d'argent a été réalisé pour vérifier la pureté du substrat.

En fin, un séchage à l'air libre.



Fig. 8 : Méthodes de préparation du substrat de culture.

IV.2.2. Préparation des pots et remplissage du sable

Les pots utilisés pour les expérimentations sont des pots en plastiques. Ils ont un diamètre au sommet de 19 cm avec une profondeur de 17 cm. Chaque pot a une contenance d'environ 2 kg. Ils sont remplis par une quantité de 1880 g de mélange sable et terreau (deux volumes sable / un volume de terreau). Le fond des pots a été recouvert d'une couche de

graviers permettant le drainage avant de recevoir le substrat. Cette valeur de poids est retenue pour déterminer la capacité de rétention de ce substrat (400 ml/pot).



Fig. 9 : Etapes du remplissage des pots par le substrat.

IV.3. Matériel végétal

IV.3.1. Choix de l'espèce végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est le radis (*Raphanus Sativus L.*) (Fig.10) de la famille des *Brassicacées*. Cette plante a été choisie en raison de son utilisation au laboratoire comme plante modèle pour des études d'éco-toxicologie de différents polluants (Sun *et al.*, 2010), ainsi que pour son meilleur taux de germination, sa croissance rapide et son importante biomasse.

IV.3.2. Germination

Au laboratoire *biodiversité et conservation des eaux et des sols* de l'université de Mostaganem (UMAB), les graines de Radis (*Raphanus sativus L.*) sont lavées avec de l'eau de javel dosée à 1° pendant 5 minutes pour éliminer toute contamination fongique. Après plusieurs rinçages à l'eau distillée, les graines sont semées dans des alvéoles contenant du terreau pour la production des plantules. Les alvéoles ont été déplacées sous serre de l'atelier agricole de (UMAB), dans l'attente de la germination. Ces alvéoles sont arrosées avec de l'eau distillée à raison de trois fois durant une seule semaine.

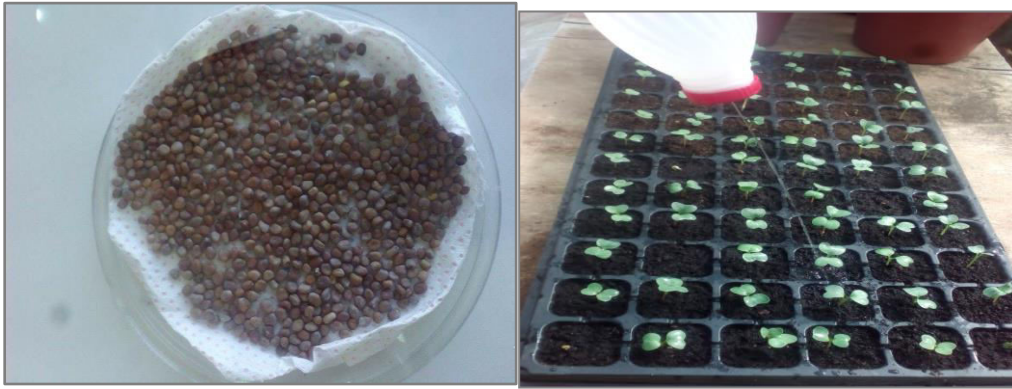


Fig. 10 : Graines (à gauche) et plantules (à droite) de *Raphanus sativus L.*

IV.3.3. Repiquage

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



Fig. 11 : Plantules de radis (*Raphanus sativus L.*) repiquées dans les pots.

IV.3.4. Préparation des solutions d'arrosage

➤ Solution nutritive

L'arrosage des plantes se fait une fois par semaine avec de l'eau distillée et deux fois par semaine avec une solution nutritive de Hoagland (1938) dont la concentration est de 2 g/l. Elle se compose de macroéléments et microéléments selon les compositions suivantes (Tab. 5).

Tab. 5 : Composition de la solution nutritive de Hoagland (1938).

Solution mère		Poids g/l
Macroéléments		
Nitrate de potassium	KNO ₃	191.90
Nitrate de calcium	(NO ₃) Ca 4H ₂ O	129.80
Nitrate d'ammonium	NO ₃ NH ₄	210.00
Sulfate de magnésium	SO ₄ Mg 7H ₂ O	61.50
Phosphate mono potassium	PO ₄ H ₂ K	54.40
Di- Potassium hydrogénophosphate	PO ₄ K ₂ H 3H ₂ O	34.23
Microéléments		
Chlorure de manganèse	CL ₂ Mn 4H ₂ O	1.80
Sulfate de cuivre	CuSO ₄ 5H ₂ O	0.176
Sulfate de zinc	ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.219
Acide borique	BO ₃ H ₃	2.861
Molybdate d'ammonium	MO ₇ O ₂₄ (NH ₄) 7H ₂ O	0.285
C ₁₀ H ₁₂ FeNaO ₈	Complexe ferrique	0.050

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

Les substrats reçoivent quatre traitements du plomb sous forme de solution de nitrate de plomb (PbNO₃) à des doses différentes : 0 ppm (témoin), 500 ppm (dose 1), 1000 ppm (dose 2), 2000 ppm (dose 3), et pour chaque traitement on a réalisé 4 répétitions.

- Dose 01: 500 ppm → 0,24 g/l
- Dose 02: 1000 ppm → 0,48 g/l
- Dose 03: 2000 ppm → 0,96 g/l

NB : 1000 ppm = 1g/l

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

Au bout de 36 jours (5^{ème} semaine) après le repiquage, la première application a été effectuée le 18/04/2017 et la deuxième, le 25/04/2017.

➤ Les plantes traitées sont arrosées trois fois par semaine : deux fois avec la solution nutritive de Hoagland (1938) et une fois avec la solution de stress (PbNO₃) pendant 15 jours.

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



Fig. 12 : Dispositif expérimental des plantes de Radis (*Raphanus sativus L*)

IV.4. Prélèvement et Préparation pour les analyses ultérieures

IV.4.1. Prélèvement des plantes

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



Fig. 13 : Démontage des plantes.

IV.5. Paramètres étudiés

A la fin des expérimentations, les plantes du radis (*Raphanus sativus L*) de quatre répétitions, sont prélevées et rincées rapidement dans trois bains successifs à l'eau distillée. Les échantillons sont subdivisés en deux parties : parties aériennes (feuilles) et parties souterraines (tubercule et racines). Ils sont ensuite pesés pour en déterminer la matière fraîche (MF). L'élongation foliaire et racinaire des plantes est mesurée à l'aide d'une règle graduée en cm. Ensuite, les échantillons sont mis au réfrigérateur à 4°C pour les analyses biochimiques (Dosage de la chlorophylle et des protéines totales) et hydriques (RWC, RWL) au niveau de laboratoire ou desséchés dans l'étuve à 80°C pendant une semaine pour la détermination de la matière sèche (MS).

IV.5.1. Paramètres biométriques

IV.5.1.1. Hauteur de la partie aérienne et souterraine

La hauteur de la partie aérienne et la longueur de la partie souterraine de chaque plante a été mesurée à la fin de l'expérimentation.

IV.5.1.2. Mesure du poids frais et du poids sec

Le poids frais (g) et le poids sec (g) de chaque plante ont été déterminés à l'aide d'une balance de précision juste après la récolte.

IV.5.1.3. Mesure de la hauteur des plantes

La taille de chaque plante est mesurée à l'aide d'une règle graduée (cm). Les analyses biométriques ont été réalisées au Laboratoire de Biodiversité et conservation des eaux et des sols de l'Université de Mostaganem (UMAB) ; les mesures et les méthodes utilisées sont détaillées ci-dessous:



Fig. 14 : Etude des paramètres biométriques.

IV.5.2. Paramètres hydriques et physiologiques

Les paramètres physiologiques (teneur relative en eau, teneur en chlorophylle et en caroténoïde) sont effectués seulement sur les feuilles du radis.

IV.5.2.1. La teneur relative en eau (RWC)

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

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

$$\text{RWC (\%)} = [(P_F - P_S) / (P_{PT} - P_S)] \times 100.$$

IV.5.2.2. La perte d'eau transpiration (RWL)

Est évaluée selon la méthode de **(CLARKE et MCLAIG., 1982)**. La feuille est coupée à la base du limbe, la partie sectionnée est trempée immédiatement dans un tube à

essai rempli d'eau distillée et placée à l'obscurité à une température de 4°C pendant 12 heures. A la pleine turgescence, les feuilles sont essuyées et pesées, ce qui constitue le poids initial (Pi). Elles sont ensuite placées sur une pailleuse au laboratoire, à température ambiante. Des pesées sont effectuées à trois temps différents : après 30 mn (RWL30), 60 mn (RWL60) et 120 mn (RWL120).

La perte d'eau par transpiration est déterminée par l'équation selon (CLARKE et MCKAIG, 1982) puis (ARAUS *et al*, 1991)

$$RWLx = (P_{fi} - P_{fx}) / P_s \times 1/SF \times Temps.$$

R.W.L.: (exprimé par g/cm²/mn).

Pfi : poids frais initial.

Pfx : poids frais après une durée de 30, 60, et 120 minutes.

P_s : poids sec.

S.F : Surface Foliaire.

IV.5.2.3. Extraction et dosage de la chlorophylle et les caroténoïdes

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

Dans des tubes à essai, on ajoute à 100 mg d'échantillon frais, coupé en petits fragments, 10 ml d'acétone à 95%, l'ensemble est conservé à l'obscurité et à 4° C pendant 48 heures. Les concentrations de la chlorophylle « a », de la chlorophylle « b » sont effectués à l'aide d'un spectrophotomètre à UV à des densités optiques respectives de 662 nm et 664 nm.

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

$$\text{Chl a} = [12.21 \times Do (663) - 2.81 \times Do (646)] \times V/P$$

$$\text{Chl b} = [12.21 \times Do (646) - 2.81 \times Do (663)] \times V/P$$

$$\text{Ccar} = [1000 \times Do (470)] - [(3.27 \times \text{Chla}) - (104 \times \text{Chlb})] / 229$$

$$\text{Chl t} = [8.02 \times \text{Do (663)}] + [20.20 \times \text{Do (645)}]$$

Chl a : concentration en chlorophylle a.

Chl b : concentration en chlorophylle b.

Chl t : concentration en chlorophylle totale.

Ccar : concentration en caroténoïdes.

DO : densité optique.

V : volume de l'extrait sur 1000 ml.

P : poids frais de l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en μg de pigments / g de matière fraîche.

IV.6. Analyses statistiques

Les données obtenues sont soumises à une analyse de la variance à un facteur en randomisation fixe de classification, les moyennes et les écarts type calculés à l'aide du logiciel STAT BOX 6.40, sont comparées selon la méthode de Student et Fisher. Ces données ont également servi à l'élaboration d'histogrammes à l'aide de l'EXCEL, version 2003, nécessaire de part sa compatibilité avec STAT BOX 6.40.

Chapitre V : Résultat et discussion

V.1. Effet du plomb sur les paramètres morphologiques

Durant la période de l'expérimentation l'observation macroscopique révèle quelques anomalies chez les plantes contaminées.

- Pendant la deuxième et la troisième semaine nous avons remarqué un jaunissement sur les feuilles des plantes traitées avec le nitrate de plomb (500, 1000 et 2000 ppm) Fig.15.

- Pendant les semaines qui suivent (4, 5, 6, 7 et 8) Nous avons observé que les plantes contaminées semblent plus fragiles que les plantes témoins, et qu'il y avait des cassures au niveau des tiges des plantes soumises à différentes concentrations de Pb (500, 1000 et 2000 ppm). Même en présence de ces signes, les plantes intoxiquées, semblent poursuivre leur croissance durant toute la période de l'expérimentation.



Fig. 15 : Taches jaunes sur les feuilles des plantes intoxiquées (1 : témoin, 2 : Pb 500 ppm, 3 : Pb 1000 ppm).

Lors de la récolte, nous avons remarqué que les tubercules des plantes contaminées présentent aussi des taches brunes, dont l'intensité augmente avec l'accentuation de la dose du plomb (Fig.16).



Fig. 16 : Taches brunes sur les tubercules des plantes stressées.

V.2. Effet du plomb sur les paramètres biométriques

La mesure du poids frais et du poids sec et des tailles ont été effectuées à la fin de l'expérimentation.

V.2.1. Effet du plomb sur la hauteur de la partie aérienne et sous terrain

En absence du Plomb et au niveau des plantes témoins, On a enregistré une longueur moyenne estimé à $43,5 \pm 5,447$ cm. En présence du plomb, la hauteur de la partie aérienne des plantes du radis (*Raphanus sativus L*) qui ont été traité à différentes concentrations du Plomb diminue d'une façon non significative avec une probabilité qui est égale 0,17 ($P > 0,05$) pour les doses D1, D2 et D3, les moyennes de la longueur des plantes sont évaluées respectivement $42,63 \pm 4,082$ cm $39 \pm 2,499$ cm et $36,5 \pm 2,38$ cm.

Les résultats obtenus (tableau 5), montrent que la longueur des parties racinaires des plantes du radis (*Raphanus sativus L*) diminue légèrement en fonction da l'accroissement des

doses du plomb appliquées.

Dans les conditions optimales, on a enregistré une élongation racinaire des plantes témoins estimé à $28,5 \pm 10,755$ cm. En présence du plomb, la longueur des parties racinaires des plantes du radis (*Raphanus sativus L*) diminue d'une façon non significative avec une probabilité qui est égale 0.8 ($P > 0,05$) pour les doses D1, D2 et D3, les moyennes de la longueur des plantes sont évaluées respectivement $29 \pm 8,907$ cm, $25,75 \pm 4,646$ cm et $24,75 \pm 2,872$ cm.

Tab. 5 : les valeurs de la longueur des parties aériennes et racinaires des plantes du radis (*Raphanus sativus L*) exposés au plomb.

Dose du plomb en ppm	longueur des parties aériennes (cm)	longueur des parties racinaires (cm)
D 0 (0 ppm)	$43,5 \pm 5,447$	$28,5 \pm 10,755$
D 1 (500 ppm)	$42 \pm 4,082$	$29 \pm 8,907$
D 2 (1000 ppm)	$39 \pm 2,449$	$25,75 \pm 4,646$
D 3 (2000 ppm)	$36,5 \pm 2,38$	$24,75 \pm 2,872$

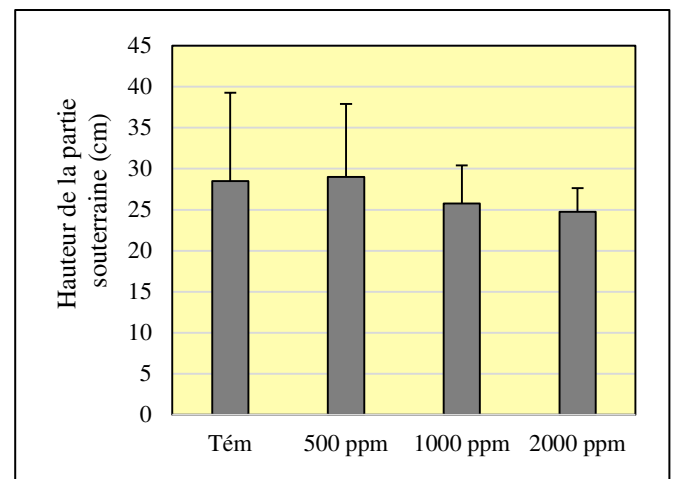
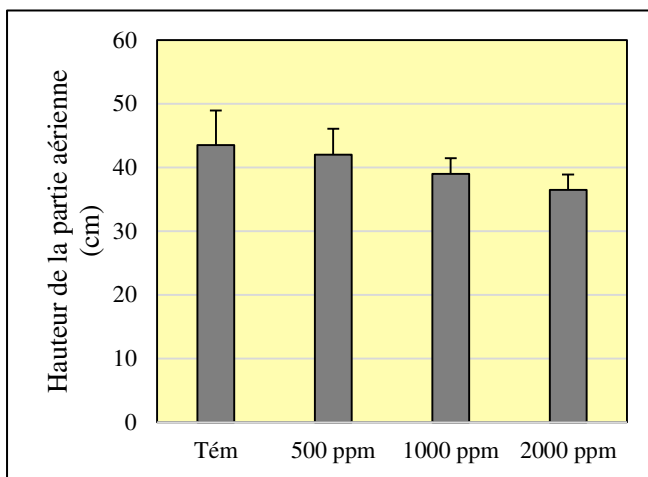


Fig.17 : Effet du plomb (0, 500, 1000, 2000 ppm) sur la hauteur des parties aériennes et sous terraines des plantes de radis (*Raphanus Sativus L.*)

V.2.2. Effet du plomb sur le poids frais et le poids sec (la biomasse)

Les résultats obtenus révèlent clairement que chez les plantes du radis, le stress métallique appliqué (Pb) pendant deux mois a provoqué une régression dans le poids.

En absence du plomb, la masse de matière fraîche des plantes témoins enregistrée est estimée à $234,255 \pm 21,325$ g. En présence du plomb, la masse de matière fraîche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) qui ont été traitées à différentes doses est diminué d'une façon non significative avec une probabilité qui est égale 0,7 ($P > 0,05$) pour les doses D1, D2 et D3, les moyennes du poids frais des plantes sont évaluées respectivement $230,425 \pm 36,287$ g, $223,35 \pm 28,241$ g et $214,325 \pm 28,348$ g.

L'examen des résultats obtenus (tableau 6), montrent que La masse de la matière sèche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) diminue légèrement en fonction de l'accroissement des doses du plomb appliquées.

En absence du plomb, La masse de la matière sèche des plantes témoins enregistrée est estimée à $21,325 \pm 0,862$ g. En présence du plomb, La masse de la matière sèche des plantes du radis (*Raphanus sativus*) qui ont été traitées à différentes doses est diminuée d'une façon significative avec une probabilité qui est égale 0,04 ($P < 0,05$).

Pour les doses D1, D2 et D3, les moyennes du poids sec des plantes sont évaluées respectivement $19,95 \pm 1,387$ g, $19,025 \pm 2,082$ g et $15,375 \pm 4,533$ g.

Tab. 6 : les valeurs de la matière fraîche et sèche des plantes du radis (*Raphanus sativus* L) exposés au plomb.

Dose du plomb en ppm	MF (g)	MS (g)
D0 (0 ppm)	$234,255 \pm 23,798$	$21,325 \pm 0,862$
D1 (500 ppm)	$230,425 \pm 36,287$	$19,95 \pm 1,387$
D2 (1000 ppm)	$223,35 \pm 28,241$	$19,025 \pm 2,082$
D3 (2000 ppm)	$214,325 \pm 28,348$	$15,375 \pm 4,533$

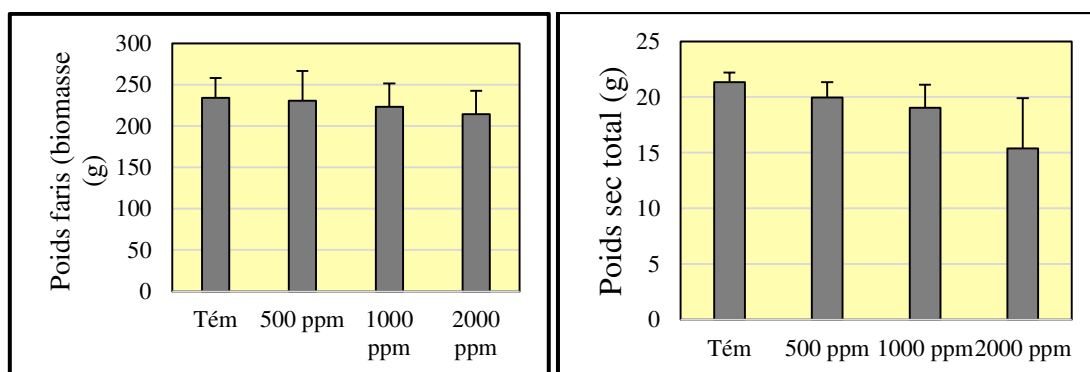


Fig. 18 : Effet du plomb (0, 500, 1000, 2000 ppm) sur le poids frais et sec (biomasse) (g) des plantes de radis (*Raphanus sativus* L.).

V.3. Effet du plomb au niveau des paramètres physiologiques

V.3.1. Effet du plomb sur la teneur relative en eau (RWC)

La figure (19) montre que les plantes du radis intoxiquées par le plomb, Présentent une augmentation non significative ($P > 0.05$) de la teneur relative en eau de leurs feuilles. Dans les conditions optimales, on a enregistré une moyenne estimée à $81,813 \pm 3,17 \%$. Au niveau des plantes issues des traitements D2 et D3, on constate une diminution non significative par rapport aux témoins avec une probabilité est égale $0,6 P > 0,05$) des teneurs relative en eau (RWC) : $73,694 \pm 3,861 \%$ pour D2 et $76,464 \pm 4,284 \%$ pour D3. On a enregistré une augmentation des valeurs de RWC au niveau des lots D1 où la valeur estimée à $86,301 \pm 28,52$.

Tab. 7 : les valeurs de la teneur relative en eau (%) des plantes du radis exposés au plomb.

Dose du plomb en ppm	RWC (%)
D0 (0 ppm)	$81,813 \pm 3,179$
D1 (500 ppm)	$86,301 \pm 28,52$
D2 (1000 ppm)	$73,694 \pm 3,861$
D3 (2000 ppm)	$76,464 \pm 4,284$

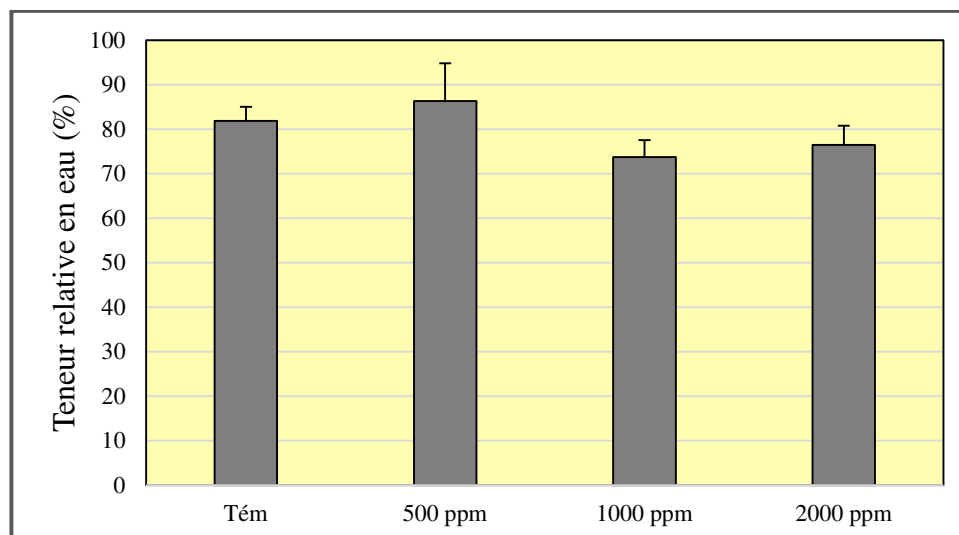


Fig. 19 : Effet du plomb (0, 500, 1000, 2000 mg/l) sur la variation de la teneur relative en eau (RWC) des plantes du radis (*Raphanus Sativus L.*).

V.3.2. Effet du plomb sur la teneur relative en eau (RWL)

Les résultats obtenus (Tab. 8), La perte d'eau par transpiration (RWL) des plantes du radis (*Raphanus sativus L.*) est diminuée avec l'augmentation des doses du plomb appliquées.

Dans les conditions optimales et au niveau des plantes témoins, le RWL des plantes est caractérisée par RWL 30 de $0,01 \pm 0,003 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$, RWL 60 de $0,009 \pm 0,002 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ et RWL 120 de $0,008 \pm 0,002 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ et pour les plantes qui ont été traitées à des doses D1, D2 et D3, on constate une diminution de RWL 30, RWL 60 où on a enregistré RWL 30 : pour D1 $0,009 \pm 0,002 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$, D2 $0,009 \pm 0,002 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ et D3 $0,008 \pm 0,002$, alors que RWL 60: pour D1 $0,008 \pm 0,002 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$, D2 $0,008 \pm 0,002$ et D3 $0,006 \pm 0,001 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$.

Pour les valeurs de RWL120 au niveau des lots D1, D2 et D3 on a enregistré des valeurs estimées à $0,007 \pm 0,001 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$, $0,006 \pm 0,001 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ et $0,007 \pm 0,001 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ respectivement par rapport au témoin D0 avec une valeur de $0,008 \pm 0,002 \text{ g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$.

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

Tab. 8 : Les valeurs de La perte d'eau par transpiration (RWL) des plantes du radis (*Raphanus sativus L.*) exposées au plomb.

Dose du plomb en ppm	RWL ($\text{g.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$)		
	RWL 30	RWL 60	RWL120
D0 (0 ppm)	$0,01 \pm 0,003$	$0,009 \pm 0,002$	$0,008 \pm 0,002$
D1 (500 ppm)	$0,009 \pm 0,002$	$0,008 \pm 0,002$	$0,007 \pm 0,001$
D2 (1000 ppm)	$0,009 \pm 0,002$	$0,008 \pm 0,002$	$0,006 \pm 0,001$
D3 (2000 ppm)	$0,008 \pm 0,002$	$0,006 \pm 0,001$	$0,007 \pm 0,001$

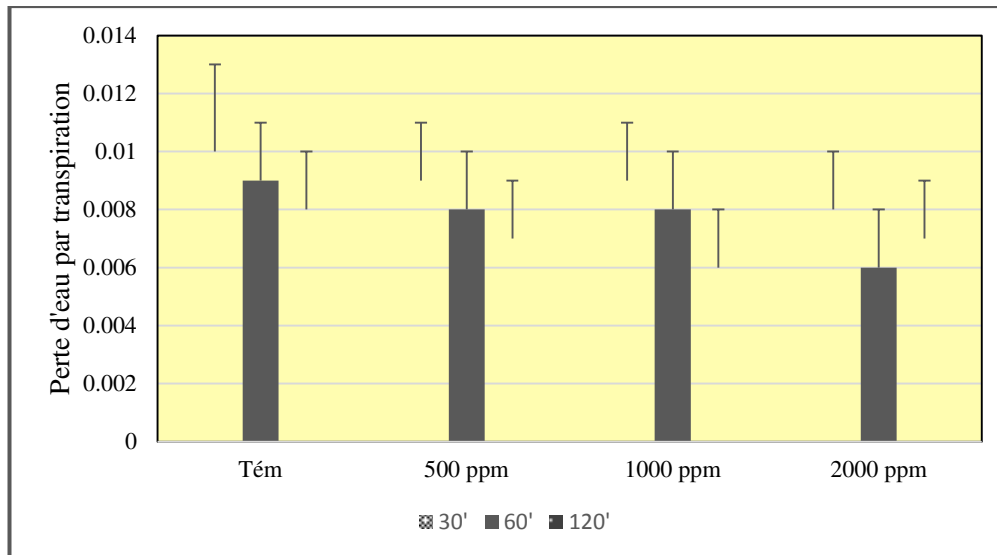


Fig. 20 : Effet du plomb (0, 500, 1000, 2000 mg/l) sur la variation de la perte d'eau par transpiration (RWL) des plantes du radis (*Raphanus sativus L.*).

V.4. Effet du plomb sur la teneur en pigments chlorophylliens foliaires

Les dosages de la chlorophylle a, b, totale et des caroténoïdes, ont été faites sur les feuilles des plantes (témoins et intoxiquées).

V.4.1. Teneur en chlorophylle a (CHa)

Les résultats soulignés dans la figure (21) ont démontrés une régression de la teneur en chlorophylle a (CHa) au fur et à mesure que le stress métallique (concentration du Pb) s'accroît. Cette teneur est diminuée chez les plantes intoxiquées, représenté par des valeurs de $0,813 \pm 0,179$, $0,797 \pm 0,125$, $0,781 \pm 0,082$, sous les traitements D1, D2 et D3 de Pb respectivement, Par rapport aux plantes témoins ($0,877 \pm 0,128$), Il faut noter que cette diminution est non significative ($p < 0.05$).

Tab. 9 : les teneurs en chlorophylle a des plantes du radis (*Raphanus sativus L.*) exposées au plomb.

Dose du plomb en ppm	Teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g/g}$)
D0 (0 ppm)	$0,877 \pm 0,128$
D1 (500 ppm)	$0,813 \pm 0,179$
D2 (1000 ppm)	$0,797 \pm 0,125$
D3 (2000 ppm)	$0,781 \pm 0,082$

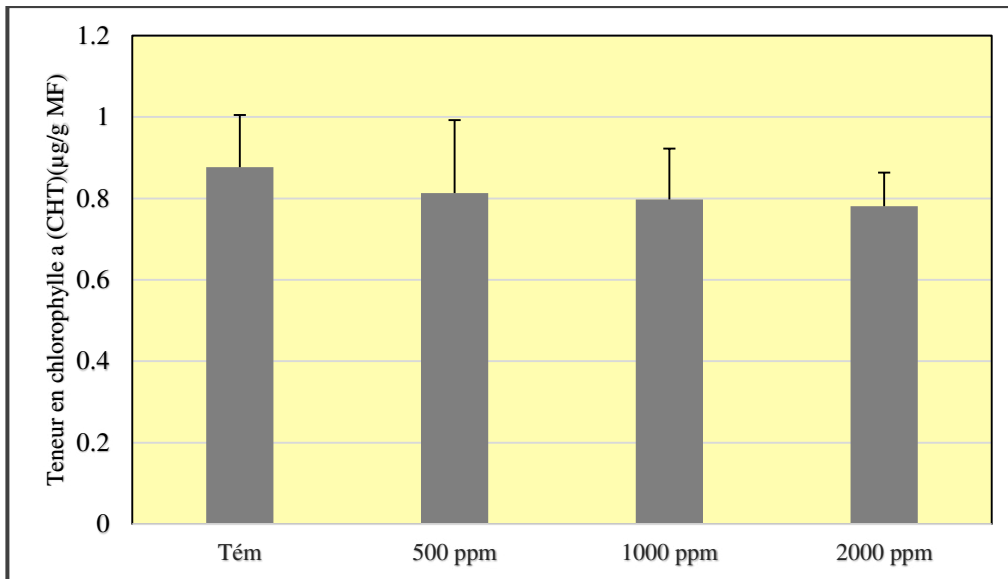


Fig. 21 : Effet du plomb (0, 500, 1000, 2000 ppm) sur la teneur en chlorophylle a des plantes du radis (*Raphanus sativus L.*).

V.4.2. Teneur en chlorophylle b (CHb)

Les résultats obtenus dans la figure (22) révèlent que chez les plantes du radis, le plomb a provoqué une diminution de la teneur en chlorophylle b, d'une façon non significative sous les doses de Pb : D1, D2 et D3 ($0,251 \pm 0,056$ et $0,245 \pm 0,009$ et $0,236 \pm 0,032$ µg/g MF) respectivement, par rapport au témoin qui est de $0,254 \pm 0,033$ µg/g MF.

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

Dose du plomb en ppm	Teneur en chlorophylle b (µg/g)
D0 (0 ppm)	$0,254 \pm 0,033$
D1 (500 ppm)	$0,251 \pm 0,056$
D2 (1000 ppm)	$0,245 \pm 0,009$
D3 (2000 ppm)	$0,236 \pm 0,032$

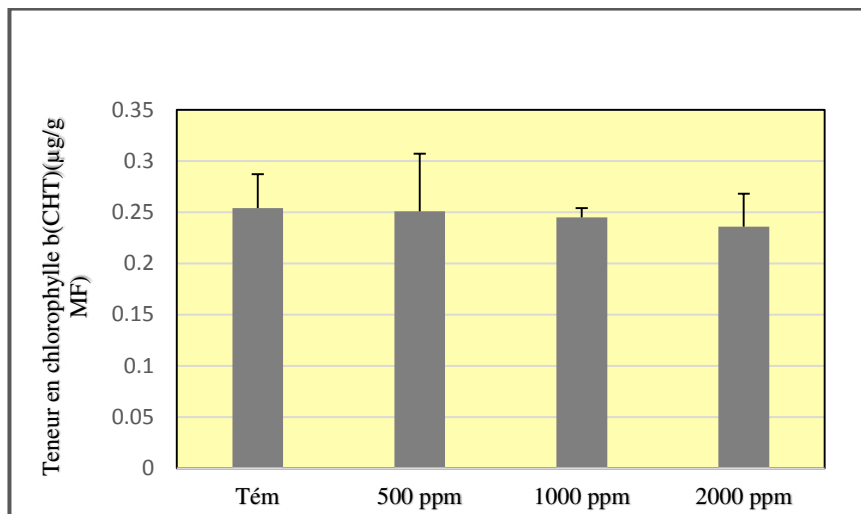


Fig.22 : Effet du plomb (0, 500, 1000, 2000 ppm) sur la teneur en chlorophylle b des plantes du radis (*Raphanus Sativus L.*)

V.4.3. Teneur en chlorophylle totale (CHt)

La figure (23) montre que le stress appliqué (le plomb) provoque une nette diminution du taux de la chlorophylle totale chez les plantes du radis, comparativement aux plantes témoins.

On observe qu'il ya une diminution non significative ($p > 0.05$) de la teneur en chlorophylle totale chez les plantes stressées sous les doses de Pb: D1, D2 et D3 ($1,375 \pm 0,299$ et $1,341 \pm 0,143$ et $1,306 \pm 0,104 \mu\text{g/g MF}$) respectivement, par apport au témoin qui est de $1,44 \pm 0,197 \mu\text{g/g MF}$.

Tab. 11 : les teneurs en chlorophylle totale des plantes du radis (*Raphanus sativus L.*).

Dose du plomb en ppm	Teneur en chlorophylle totale a+b (µg/g)
D0 (0 ppm)	$1,44 \pm 0,197$
D1 (500 ppm)	$1,375 \pm 0,299$
D2 (1000 ppm)	$1,341 \pm 0,143$
D3 (2000 ppm)	$1,306 \pm 0,104$

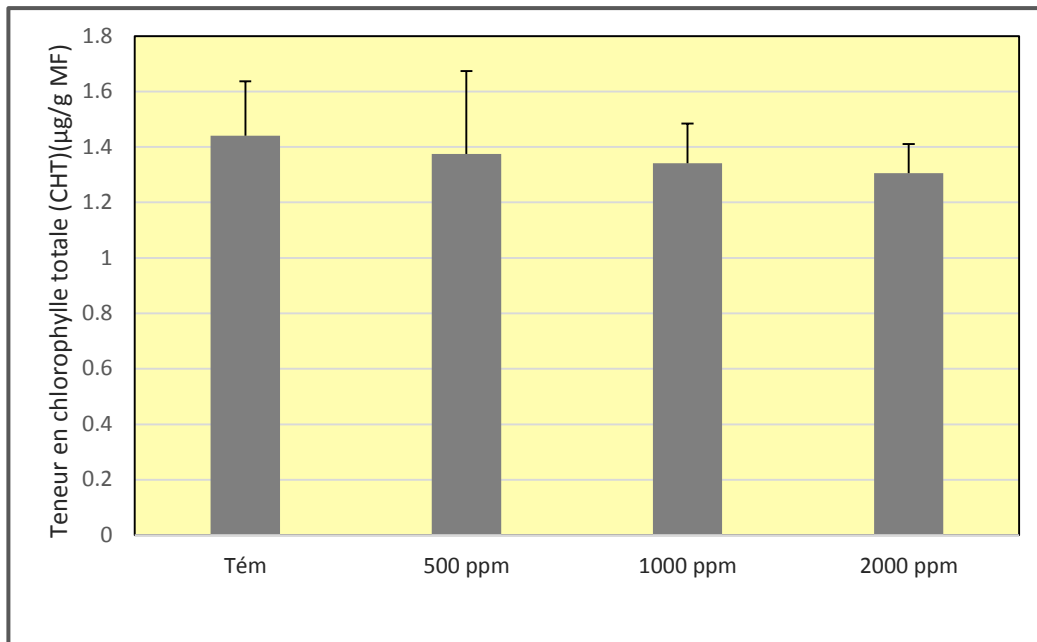


Fig. 23 : Effet du plomb (0, 500, 1000, 2000 ppm) sur la teneur en chlorophylle totale des plantes du radis (*Raphanus sativus L.*).

V.4.4. Effet du plomb sur la teneur en caroténoïdes

L'effet du nitrate du plomb sur la teneur en caroténoïdes des plantes du radis (*Raphanus sativus L.*) est présenté dans la figure (24). La teneur en caroténoïdes en absence du plomb (témoins) est de $0,426 \pm 0,047$ µg/g de Matière Fraiche dans les feuilles des plantes du radis. Mais cette teneur diminue en présence du plomb, d'une façon non significative ($p > 0.05$) à D1 ($0,414 \pm 0,044$ µg/g MF) et à D2 ppm ($0,384 \pm 0,059$ µg/g MF) et à D3 ($0,372 \pm 0,021$ µg/g MF).

Tab. 12 : les teneurs en caroténoïdes des plantes du radis (*Raphanus sativus L.*).

Dose du plomb en ppm	Teneur en chlorophylle totale a+b (µg/g)
D0 (0 ppm)	0,426±0,047
D1 (500 ppm)	0,414±0,044
D2 (1000 ppm)	0,384±0,059
D3 (2000 ppm)	0,372±0,021

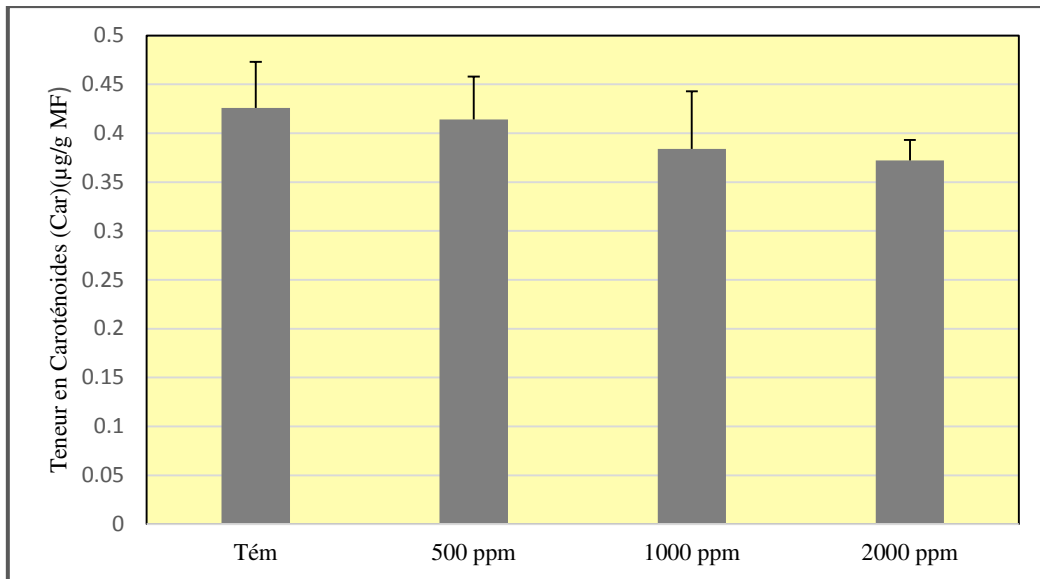


Fig. 24 : Effet du plomb (0, 500, 1000, 2000 ppm) sur la teneur des Caroténoïdes des plantes du radis (*Raphanus Sativus L.*),

Discussion

L'objectif de notre étude est d'examiner le comportement d'une légumineuse, le radis (*Raphanus sativus L.*) Soumise à des doses croissantes de nitrate de plomb (500, 1000 et 2000 ppm) durant une période d'expérimentation de deux mois et d'évaluer son potentiel de phytoremédiation.

1. Effet du plomb sur les paramètres morphologiques et biométriques)

De nombreuses études ont démontré que le plomb à de très faibles concentrations inhibe la croissance des plantes (Mishra et Choudhuri, 1998; Wierzbicka et Obidzinska, 1998; Tomulescu *et al.*, 2004). Par ailleurs, des études faites par (Wierzbicka et Obidzinska, 1998). (Mishra et Choudhuri, 1998; Kosobrukhov *et al.*, 2004; Xiong *et al.*, 2006; Zheljzakov *et al.*, 2006).ont montré que l'inhibition de la croissance n'est pas forcément corrélée à une diminution de biomasse.

Ceci pourrait s'expliquer d'après (Seregin et Ivanov, 2001; Sharma et Dubey, 2005). (Cecchi, 2008) par l'altération de nombreux processus physiologiques comme la régulation du statut hydrique, la nutrition minérale, la respiration ou la photosynthèse et l'interaction du plomb avec les différents composants cellulaires et les macromolécules (protéines, ADN...).

Ces perturbations moléculaires s'accompagnent par des anomalies macroscopiques tels que le brunissement des racines, jaunissement des feuilles, des chloroses et des nécroses foliaires (Seregin et Ivanov, 2001 ; Sharma et Dubey, 2005).

Nos résultats montrent que l'excès de plomb inhibe la croissance du radis (*Raphanus sativus L.*) qui se manifeste par une réduction du poids frais et poids sec de la plante (biomasse produite), diminution de la hauteur des parties aériennes et racinaires. Ces résultats obtenus sont en accord avec ceux de (Sereguine et Ivanov, 1998) qui ont également observé une inhibition de 50% de la croissance des racines du maïs traité par le nitrate de plomb, (Garg *et al.*, 2004; Anuradha et Rao, 2007; Gopal et Rizvi, 2008; Biteur *et al.*, 2011; Dan wang *et al.*, 2012; Ait hamadouche *et al.*, 2012), qui ont révélé une diminution des paramètres biométriques chez le radis stressé par les métaux lourds.

2 Effet du plomb sur les paramètres physiologiques

2.1. Effet du plomb sur la teneur relative en eau (RWC)

La teneur relative en eau (RWC) des feuilles renseigne sur la turgescence relative des tissus et figure parmi les critères d'évaluation de la tolérance au stress. Elle est liée à la capacité de la plante à maintenir un niveau d'hydratation des tissus qui soit à même de garantir la continuité de l'activité métabolique.

Nos résultats montrent que le stress métallique appliqué (Pb) à différentes concentrations (500, 1000 et 2000 ppm) sur le radis (*Raphanus sativus L.*). Provoque une diminution non significative de la teneur relative en eau (RWC) au niveau des feuilles des plantes traitées, ces dernières ont pu garder une teneur en eau relativement élevée et proche de celle de leur témoin. Ceci signifie que le radis tolère la présence de plomb en contrôlant ses pertes d'eau. Cet effet peut résulter d'une régulation stomatique efficace (**Brunet, 2008 ; Cheikh M'hamed et al., 2008**).

Des résultats similaires obtenus par (**Brunet, 2008**) montrent qu'il y a peu de différences concernant la teneur relative en eau (RWC) des plantes légumineuse (*Lathyrus sativus L.*) traitées par le plomb, d'autres études ont permis d'observer une diminution du taux de transpiration ainsi que du contenu en eau dans les plantes (**Iqbal et Mushtaq, 1987; Sharma et Dubey, 2005**).

2. Effet du plomb sur la teneur en pigments chlorophylliens foliaires

La teneur en pigments chlorophylliens est souvent utilisée pour évaluer l'impact de nombreux stress environnementaux.

Au niveau physiologique une exposition au plomb entraîne de nombreuses perturbations dans les parties aériennes, en particulier l'appareil photosynthétique (**Seregin et Ivanov, 2001; Sharma et Dubey, 2005**).

Nos résultats montrent une diminution importante de la teneur en pigments chlorophyllien (CHa, CHb, CHt et Caroténoïdes) du radis (*Raphanus sativus L.*) exposé à différentes concentrations en Pb (500, 1000 et 2000 ppm) par rapport aux témoins. Cette

diminution s'accroît avec l'augmentation de l'intensité du stress.

De ce fait plusieurs travaux montrent que le plomb a une influence sur la réduction de la teneur en pigments chlorophylliens (chlorophylles et caroténoïdes). Ceci pourrait être attribué d'une part, au stress oxydatif qui provoque l'inhibition de l'acide aminolévulinique déshydratase (ALAD), une enzyme importante dans la biosynthèse de la chlorophylle (**Pereira et al., 2006**) et d'autre part, le plomb peut agir directement sur le transport des électrons et des enzymes du cycle de Calvin (en particulier la Rubisco) et indirectement induit une diminution de la teneur en chlorophylle (**Chatterjee, 2000**).

Le plomb, en induisant une fermeture des stomates, limite considérablement les flux gazeux entre les feuilles et le milieu extérieur. Cette limitation du flux de CO₂ entrant est considérée comme la cause principale de la forte réduction de la fixation du CO₂ (**Bazzaz et al., 1975 ; Parys et al., 1998**).

Les ions du plomb peuvent aussi être la cause principale de la détérioration de la structure et de la composition des thylakoïdes et des chloroplastes, ce qui a pour effet d'altérer les photosystèmes (**Yruela et al., 1996; Yruela, 2005**).

L'effet des différentes concentrations de (Pb) ne semble pas identique sur les deux types de chlorophylle a et b, les résultats obtenus montrent que la chlorophylle a est plus sensible que la chlorophylle b à l'intoxication.

L'intoxication au plomb se manifeste aussi par une diminution de la teneur en caroténoïdes à la concentration de plomb. Ceci résulterait probablement du fait que lors d'un stress oxydatif par le plomb, celui-ci induit un déséquilibre au niveau de la cellule entre les molécules oxydantes et antioxydantes, les caroténoïdes assurent une protection contre les dommages oxydatifs se trouvant de ce fait affectés par le plomb (**Lawler, 2001**).

Les mêmes résultats ont été obtenus chez le radis (*Raphanus sativus* L.) et canola (*Brassica napus*) cultivés dans des sols pollués par plusieurs contaminants (**Marchiol et al., 2004**). Le blé traité avec du nickel (**Gajewska et Sktodowska, 2007**), le maïs traité par le cadmium (**Jain et al., 2007**), chez l'orge (*Hordium vulgare* L.) sous stress salin (**Cheikh M'hamed et al., 2008**), et dans le radis traité par le plomb (**Gopal et Rizvi, 2008; Biteur et al., 2011**) et dans les cotylédons de concombres traités par l'aluminium (**Perira et al., 2010**).

V. Conclusion

Le plomb pose actuellement des problèmes importants en matière de contamination de l'environnement. Les plantes, par leur immobilité, sont particulièrement vulnérables à l'effet délétère de ce contaminant. Ces dernières années, le développement de techniques efficaces pour décontaminer les sites pollués est devenu indispensable. L'une de ces techniques est la phytoremédiation qui exploite les propriétés de certaines plantes à tolérer et accumuler des quantités considérables de métaux lourds.

Les capacités d'accumulation du Pb par le radis (*Raphanus sativus L.*) ont été étudiées par de nombreux chercheurs et comparées avec celles des plantes de la même famille (Brassicacea). Les résultats montrent que le radis présente des capacités d'accumulation dans les différentes parties, faisant de cette espèce végétale une candidate pour la mise au point de nouveaux systèmes de phytoremédiation.

Ce travail portait sur l'étude des effets du plomb sur les paramètres morpho-physiologiques et physiologiques du radis (*Raphanus sativus L.*) et sur l'évaluation des capacités de tolérance et de défense de ce dernier pour être utilisé dans la dépollution des sols contaminés.

Les résultats obtenus indiquent que l'exposition au plomb provoque une perturbation qui affecte les processus physiologique et hydrique du radis. L'excès de plomb peut affecter la plante du radis (*Raphanus sativus L.*) par une inhibition de croissance, une réduction de la biomasse, et des tailles. L'observation macroscopique a révélé l'apparition de signes visibles au niveau des feuilles et des tubercules (jaunissement et taches brunes).

L'analyse hydrique des plantes exposées au nitrate de plomb montre une diminution non significative de la teneur relative en eau (RWC) ce qui témoigne d'un maintien d'hydratation des tissus et figure parmi les critères d'évaluation de la tolérance au stress.

Perspectives

Notre travail laisse entrevoir de nombreuses perspectives d'expérimentations. Dans un premier temps et dans la continuité directe de cette étude, il est nécessaire d'effectuer le dosage du plomb dans les différentes parties de la plante afin de connaître qu'elle est ou qu'elles sont les parties responsables de l'accumulation de ce métal.

Il serait important aussi de tester les capacités de tolérance du radis (*Raphanus sativus L.*) à d'autres métaux (Cd, Zn, Ni, Cu, etc.) car il est rare qu'un milieu soit pollué par un seul métal. Ceci permettrait d'étudier les réponses de la plante aux autres métaux mais aussi sa réaction face à la combinaison de plusieurs d'entre eux pouvant induire une contrainte différente. En prime, le phénomène de compétition entre les différents métaux permettrait de déterminer les « préférences » de la plante en termes d'accumulation.

Pour étayer et confirmer les résultats probants en laboratoire de la phytoremédiation par le radis et définir les meilleures conditions tendant à développer et appliquer le procédé et la technique sur terrain et à grande échelle, il est recommandé :

- D'engager des études sur plusieurs cycles de la plante ou sur plusieurs années.
- Faire des essais sur plusieurs cycles sur le même sol et sur des sols et terrain différents.
- Engager des études sur une série de placettes en *ex situ* et différenciées par les caractéristiques édaphiques, faunistiques, floristiques, climatiques, etc. et variées quant à leur dimension et nature.
- Engager des études pour déterminer le comportement du radis en association avec d'autres types de plantes annuelles ou vivaces sur des sols contaminés par différents éléments minéraux ou organiques pour mesurer et observer les interactions éventuelles.
- Associer d'autres spécialités pour des observations et mesures de façon intégrée.

Enfin, il serait peut-être opportun de lancer des actions pilotes pour mettre en application les possibilités de traitement de la pollution par phytoremédiation. En collaboration avec les pouvoirs publics et collectivités locales concernés ; des sites éventuels peuvent être sélectionnés pour :

- Le traitement des eaux usées en zones éparses ou dans de petites agglomérations.
- Le traitement des lixiviats se trouvant dans les décharges ou les Centres d'Enfouissement Techniques (CET).
- La décontamination des sols irrigués par des eaux traitées en station d'épuration. Le « nettoyage » du sol par extraction des polluants en traces qui s'y trouvent peut se faire par le biais du radis cultivé en assolement saisonnier. Dans ce cas, le radis sera considéré comme plante nettoyante.
- Possibilité de phyto-traitement des rejets d'ateliers en épars.

Annexe :

Analyse de variance :

Tab. 1 : Analyse de variance de la longueur des parties souterraines du Radis (*Raphanus sativus* L) :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	726	15	48,4				
VAR.FACTEUR 1	51,5	3	17,167	0,305	0,82242		
VAR.RESIDUELLE 1	674,5	12	56,208			7,497	27,77%

Tab. 2 : Analyse de variance de la hauteur des parties aériennes du Radis (*Raphanus sativus* L) :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	291	15	19,4				
VAR.FACTEUR 1	117	3	39	2,69	0,09269		
VAR.RESIDUELLE 1	174	12	14,5			3,808	9,46%

Tab. 3: Analyse de variance du poids frais du Radis (*Raphanus sativus* L) :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0,018	15	0,001				
VAR.FACTEUR 1	0,002	3	0,001	0,375	0,77454		
VAR.RESIDUELLE 1	0,016	12	0,001			0,037	15,91%

Tab. 4 : Analyse de variance du poids sec du Radis (*Raphanus sativus* L) :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	160,344	15	10,69				
VAR.FACTEUR 1	77,692	3	25,897	3,76	0,04083		
VAR.RESIDUELLE 1	82,652	12	6,888			2,624	13,87%

Tab. 5 : Analyse de variance de la teneur relative en eau RWC :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2822,369	15	188,158				
VAR.FACTEUR 1	357,111	3	119,037	0,579	0,64253		
VAR.RESIDUELLE 1	2465,258	12	205,438			14,333	18,04%

Tab. 6 : Analyse de variance de la RWL 30 :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0	15	0				
VAR.FACTEUR 1	0	3	0	1,068	0,40012		
VAR.RESIDUELLE 1	0	12	0			0,002	30,78%

Tab. 7 : Analyse de variance de la RWL 60 :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0	15	0				
VAR.FACTEUR 1	0	3	0	1,61	0,23834		
VAR.RESIDUELLE 1	0	12	0			0,002	23,88%

Tab. 8 : Analyse de variance de la RWL 120 :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0	15	0				
VAR.FACTEUR 1	0	3	0	4,644	0,02234		
VAR.RESIDUELLE 1	0	12	0			0,001	19,54%

Tab. 9 : Analyse de variance de la teneur en chlorophylle a du Radis (*Raphanus sativus* L) :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0,234	15	0,016				
VAR.FACTEUR 1	0,021	3	0,007	0,399	0,75857		
VAR.RESIDUELLE 1	0,212	12	0,018			0,133	16,28%

Tab. 10 : Analyse de variance de la teneur en chlorophylle b du Radis (*Raphanus sativus* L) :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0,017	15	0,001				
VAR.FACTEUR 1	0,001	3	0	0,18	0,90771		
VAR.RESIDUELLE 1	0,016	12	0,001			0,037	14,83%

Tab. 11 : Analyse de variance de la teneur en chlorophylle total a+b du Radis (*Raphanus sativus* L) :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0,518	15	0,035				
VAR.FACTEUR 1	0,039	3	0,013	0,324	0,80944		
VAR.RESIDUELLE 1	0,479	12	0,04			0,2	14,63%

Tab. 12 : Analyse de variance de la teneur en caroténoïdes Radis (*Raphanus sativus* L) :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0,032	15	0,002				
VAR.FACTEUR 1	0,008	3	0,003	1,255	0,33375		
VAR.RESIDUELLE 1	0,024	12	0,002			0,045	11,22%

Abreu CA, de Abreu MF et andrade JC (1998). Distribution of lead in the soil profile evaluated by DTPA and Mehlich-3 solutions. *Bragantia* **57** : 185-882.

Adriano, D.C., 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. 2nd Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg. 223-232.

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

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

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

Aoun M (2009). Action du cadmium sur les plants de moutarde indienne [Brassica juncea (L.) Czern] néoformés à partir de couches cellulaires minces et issus de semis. Analyses physiologiques et rôle des polyamines. Thèse de Doctotrat, Univ de Bretagne Occidentale. 135P.

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

Baker, D.E. (1990). Copper. In: B.J. Alloway éd., Heavy Metals in Soils, John Wiley & Sons Inc., New York, 151-176.

Baker A.J.M., et Brooks., R.R. (1989). Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1, 81-126.

Baize D (2002). "Les éléments traces métalliques dans les sols. INRA éditions.

Baker A (1981). "Accumulators and excluders. Strategies in the response of plants to heavy metals". *Journal of Plant Nutrition* **3** : 643-654.

Bargagli R. (1998). Trace elements in terrestrial plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. Springer. 324 p.

Bazzaz FA, Carlson RW, Rolfe GL (1975). "Inhibition of Corn and Sunflower Photosynthesis by Lead." *Physiologia Plantarum* **34** : 326-329.

- Bes C (2008).** Phytoremédiation des sols d'un site de traitement du bois contaminés par le cuivre. Thèse de Doctorat. Univ Bordeaux 1 Ecole Doctorale des Sciences et Environnements.
- Blaylock MJ, Huang JW (2000).** Phytoextraction of metals. In I Raskin, BD Ensley, eds, Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. John Wiley and Sons, New York, p 53–70.
- Biteur N, Aoues A, Kharoubi A et Slimani N (2011).** "Oxidative stress induction by lead in leaves of Radish (*Raphanus sativus*) seedlings". Not Sci Biol **3** : 93-99.
- Briat JF et Lebrun M (1999).** "Plant responses to metal toxicity." Comptes Rendus de l'Academie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie **322** : 43-54.
- Brunet J, Reppelin A, Varralult G, Terryn N et Zuily-Fodil Y (2008).** "Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.)". C.R.Biologies **331** : 859-864.
- Cecchi M (2008).** "Devenir du plomb dans le système Sol-Plante: Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate)." Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse.226P.
- Chaney RL, Malik M, Li YM, Brown SL, Brewer EP, Angle JS et Baker AJM (1997).** Phytoremediation of soil metals. Current Opinion in Biotechnology **8**: 279-284.
- Chatterjee J et Chatterjee C (2003).** Management of phytotoxicity of cobalt in tomato by chemical measures. Plant Science **64**: 793-801.
- Cheng C, Motohashi R, Tsuchimoto S, Fukuta Y, Ohtsubo H, Ohtsubo E (2003).** Polyphyletic origin of cultivated rice: based on the interspersed pattern of SINEs. Mol Biol Evol **20** :67-75.
- Cheikh M'Hamed H, Abdellaoui R, Kadri K, Ben Naceur M et Bel Hadj S (2008).** Evaluation de la tolérance au stress salin de quelques accessions d'orge (*Hordeum vulgare* L.) cultivées en Tunisie: approche physiologique. Sciences & Technologie **28** : 30 -37.
- Dalenberg JW et Van Driel W (1990).** "Contribution of atmospheric deposition to heavy metal concentrations in field crops." Netherlands journal of agricultural science **38**: 369-379.
- Dumat C, Chiquet A, Goody D, Aubry E, Morin G, Juillot F, Benedetti M (2001).** Metal ion geochemistry in smelter impacted soils and soil solutions. Bulletin de la Société Géologique de France **172**: 539-548.

- Eranen JK , Kozlov MV (2007).** Competition and facilitation in industrial barrens: Variation in performance of mountain birch seedlings with distance from nurse plants. *Chemosphere* **67**: 1088-1095.
- Ferrand E, Dumat C, Leclerc-Cessac E et Benedetti M (2006).** Phytoavailability of zirconium in relation to its initial added form and soil characteristics. *Plant Soil* **287**: 313-325.
- Franklin, R.E., Duis, L., Brown, R., Kemp, T. (2005).** Trace element content of selected fertilizers and micronutrient source materials. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **36**, 1591-1609.
- Freitas H, Prasad MNV et Pratas J (2004).** Plant community tolerant to trace elements growing on the degraded soils of Sao Domingos mine in the south east of Portugal: environmental implications. *Environment International* **30**: 65-72.
- Garbisu C et Alkorta I. (2001).** Phytoextraction ; a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from environment. *Bioresource technology*, **77**, 229-236.
- Gajewska E, Slaba M, Andrzejewska R et Sklodowska M (2007).** Nickel-induced inhibition of wheat root growth is related to H₂O₂ production, but not to lipid peroxidation. *Plant Growth Regul* **49** : 95–103
- Garg G et Kataria SK (2009).** Phytoremediation potential of *Raphanus sativus* (L.), *Brassica juncea* (L.) and *Triticum aestivum* (L.) for copper contaminated soil. a paper presented at 53rd Annual Conference of International Society of System Sciences, University of Queensland, Brisbane, Australia, July 12-17.
- Glater RAB et L Hernandez JR (1972).** "Lead detection in living plant tissue using a new histochemical method." *J. Air Pollut. Control Assoc.* **22**: 463-467.
- Glinski J et Lipiec J (1990).** Soil physical conditions and plant roots. Boca Raton (FL), CRC Press.
- Godin, P.M., Feinberg, M.H., Ducauze, C.J. (1985).** Modelling of soil contamination by airborne lead and cadmium around several emission sources. *Environmental Pollution Series B: Chemical and Physical* **10**, 97-114.
- Gopal R et Rizvi AH (2008).** "Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish." *Chemosphere* **70** : 1539-1544.
- Guo H, Ecker JR (2004).** The ethylene signaling pathway: new insights. *Current Opinion in*

Plant Biology **7**: 40-49.

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

Hinsinger P et Gilkes RJ (1996). Mobilisation of phosphates rock and alumina-sorbed phosphate by roots of ryegrass and clover as related to rhizosphere pH. European Journal of Soil Science **47**: 53-544.

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

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

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

Iqbal J et Mushtaq S (1987). "Effect of lead on germination, early seedling growth, soluble protein and acid phosphatase content in *Zea mays*." Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research **30**: 853-856.

Jenny H (1980). The soil resource. Springer-Verlag. Berlin.

Jopony M and SD Young (1994). "The solid solution equilibria of lead and cadmium in polluted soils." European Journal of Soil Science **45**(1): 59-70.

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

Kabata-Pendias A et Pendias H (2001). "Trace elements in soils and plants." CRC Press, Boca Raton, Florida, 2nd Edition, 209 p.

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

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

Kosobrukhov A, I Knyazeva et Mudrik V (2004). "Plantago major plants responses to

increase content of lead in soil: Growth and photosynthesis." *Plant Growth Regulation* **42** : 145-151.

Kumar P.B.A.N., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. (1995). Phytoremediation : the use of plant to remove heavy metals from soil. *Environ. Sci. Technol.* **29** : 1232-1238.).

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

Lawler JM et Demaree SR (2001). "Relationship between NADP-specific isocitrate dehydrogenase and glutathione peroxidase in aging rat skeletal muscle." *Mechanisms of Ageing and Development* **122**: 291-304.

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

Loué A. (1993). Oligo-Éléments en Agriculture. SCPA, Nathan, Paris, P 577.

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

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

McGrath SP (1998). Phytoextraction for soil remediation. In *Plants that hyperaccumulate heavy metals. Their role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral exploration and Phytomining* (ed. R. R. Brooks), pp. 261-287. Cab International, Wallingford, UK.

Mench M, Vangronsveld J, Lepp N, Bleeker P, Ruttens A et Geebelen W (2005). Phytostabilisation of metal - contaminated sites. Pages 109-190 in T. N. Springer, editor. *Phytoremediation of metal – contaminated soils*. Echevarria G., Morel J. L., Goncharova N. (Eds), Trest, Czech Republic.

Mishra A et Choudhuri MA (1998). "Amelioration of lead and mercury effects on germination and rice seedling growth by antioxidants." *Biologia Plantarum* **41**: 469-473.

Mishra S, Srivastava S, Tripathi RD, Govindarajan R, Kuriakose SV et Prasad MNV

- (2006). "Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L[lozenge]." *Plant Physiology and Biochemistry* **44**: 25-37.
- Moffat AS (1995)**. Plants proving their worth in toxic metal cleanup. *Science* (Washington, DC) **269** : 302-303.
- Morlot M (1996)**. "AGHTM Aspects analytiques du plomb dans l'environnement", Ed lavoisier TEC&DOC.
- Nriagu JO (1978)**. The biogeochemistry of lead in the environment. Ed JO Nriagu, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- Otte ML, Rozema J, Koster L, Haarsma MS et Broekman RA (1987)**. "The iron-plaque on the roots of saltmarsh plants: A barrier to heavy metal uptake? International Conference Heavy Metals in the Environment", New Orleans (USA). CEP Consultants, Edinburgh.
- Parys E, Romanowska E, Siedlecka M et Poskuta J (1998)**. "The effect of lead on photosynthesis and respiration in detached leaves and in mesophyll protoplasts of *Pisum sativum*." *Acta Physiologiae Plantarum* **20** : 313-322.
- Patra M, Bhowmik N, Bandopadhyay B, Sharma A (2004)**. "Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance." *Environmental and Experimental Botany* **52** : 199-223.
- Pereira LB, Mazzanti CMA, Goncalves JF, Cargnelutti D, Tabaldi LA et Becker AG (2010)**. Aluminium-induced oxidative stress in cucumber. *Plant Physio Biochem.* 1-7.
- Pereira LB, Tabaldi LA, Goncalves JF, Jukoski JO et Pauletto MM (2006)**. Effect of aluminium on inolevulinic acid dehydratase (ALAD) and the development of cucumber (*Cucumis sativus*). *Environ Exp Bot* **57** : 106-115.
- Pichard A (2002)**. Plomb et ses dérivés. Institut national de l'environnement. 90p.
- Pilon-Smits E (2005)**. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* **56**: 15-39.
- Prabha K Padmavathiamma et Loretta Y Li. (2007)**. Phytoremediation Technology: Hyper-accumulation Metals in Plants. *Water Air Soil Pollut* **184**: 105–126.
- Prasad MNV et Freitas H (2000)**. Removal of toxic metals from solution by leaf, stem and root phytomass of *Quercus ilex* L. (holy oak). *Environmental Pollution* **110** : 277-283.
- Prasad MNV et Freitas HMD (2003)**. Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology* **6** : 285-

321.

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

Raskin I et Ensley BD (2000). Phytoremediation of toxic metals; using plants to clean up the environment. John Wiley & Sons, New York.

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

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

Salt DE, Smith RD et Raskin I (1998). Phytoremediation. Annu. Rev. Plant Phys **49**: 643-668.

Schippers RR (2004). *Raphanus sativus* L. [Internet] Fiche de Protabase. Grubben, G.J.H. & Denton, O.A. (Editeurs). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Pays Bas.

Seregin I et Ivanov V (1998). "Histochemical Investigation of Cadmium and Lead Distribution in Plants." Russian Journal of Plant Physiology **44** : 791-796.

Seregin IV et Ivanov VB (2001). "Physiological Aspects of Cadmium and Lead Toxic Effects on Higher Plants." Russian Journal of Plant Physiology **48** : 523-544.

Seregin IV, Shpigun LK et Ivanov VB (2004). "Distribution and Toxic Effects of Cadmium and Lead on Maize Roots." Russian Journal of Plant Physiology **51** : 525-533.

Sezgin, N., Ozcan, H.K., Demir, G., Nemlioglu, S., Bayat, C. 2004. Determination of heavy metal concentrations in street dusts in Istanbul E-5 highway. Environment International 29, 979-985.

Sharma P et Dubey RS (2005). "Lead toxicity in plants."Brazilian Journal of Plant Physiology **17** : 35-52.

Singh R, Tripathi RD, Dwivedi S, Kumar A, Trivedi PK, Chakrabarty D (2003). Lead bioaccumulation potential of anaquatic macrophyte *Najas indica* are related to antioxidant system. Biores.Technol **101**: 3025–3032.

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

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

Tanhan P, Kruatrachue M, Pokethitiyook P et Chaiyarat R (2007). Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by siam weed [*Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson]. *Chemosphere* **68**: 323-329.

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

Tomulescu I, Radoviciu E, Merca V et Tuduce A (2004). "Effect of Copper, Zinc and Lead and Their Combinations on the Germination Capacity of Two Cereals." *Journal of agricultural sciences* **15**: 39-42.

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

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

Wang D, Wen F, Xu C, Tang Y et Luo X (2012). The uptake of Cs and Sr from soil to radish (*Raphanus sativus* L.)- potential for phytoextraction and remediation of contaminated soils. *Journal of Environmental Radioactivity* **110** : 78-83

Wang P, Zhang S, Wang C, Lu J (2012). Effects of Pb on the oxidative stress and antioxidant response in a Pb bioaccumulator plant *Vallisneria spiralis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **78**: 28–34

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

Wierzbicka M (1989). "Disturbances in cytokinesis caused by inorganic lead." *Environmental and Experimental Botany* **29**: 123-133.

Wierzbicka M (1994). "Resumption of mitotic activity in *Allium cepa* L. root tips during

treatment with lead salts." *Environmental and Experimental Botany* **34**: 173-180.

Wierzbicka M et Obidzinska J (1998). "The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species." *Plant Science* **137** : 155-171.

Wong MH (2003). Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* **50**: 775-780.

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

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

Ye ZH, Baker A J M, Wong MH et Willis A J (1998). Zinc, lead and cadmium accumulation and tolerance in *Typha latifolia* as affected by iron plaque on the root surface. *Aquat. Bot* **61**: 55-67.

Yruela I (2005). Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Braz. J. Plant Physiol* **17** : 145-156.

Zheljazkov VD, Craker LE et Xing B (2006). "Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil." *Environmental and Experimental Botany* **58**: 9-16.

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