



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique UNIVERSITE

MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ANIMALE ET VEGETALE

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du diplôme de MASTER II

Option : Protection de l'Environnement

Thème

**Essai de phytoremédiation d'un sol pollué au plomb par l'utilisation
du colza (*Brassica napus L.*) : effet de l'ajout d'un chélateur
(EDTA).**

Présenté par :

M^r HALLI Ahmed

Devant le jury :

Mme TALEB K.

Maitre de Conférences B.

Présidente du jury

Mr ASLA T.

Maitre Assistant A.

Encadreur

Mme LOUNI D.

Maitre Assistante A.

Examinatrice

Mr ALLILI A.

Maitre Assistant A.

Examineur

Année universitaire 2016/2017

A photograph of a long, arched greenhouse. The structure is made of dark metal ribs covered in translucent plastic. Inside, rows of plants are growing. The plants in the foreground are covered in numerous small, bright pink flowers, with some small yellow flowers interspersed. The plants are lush and green. In the distance, a person can be seen walking through the greenhouse. The lighting is bright, suggesting daylight.

*« On ne fait pas pousser une
plante en tirant sur ses feuilles. On
l'arrose, on la soigne, on l'observe
patiemment pendant qu'elle grandit. »*

Proverbe africain.

Avant d'entrer dans le vif du sujet, je tiens à remercier toutes les personnes, très nombreuses, qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail qui fut long, fastidieux mais enrichissant tant du point de vue académique que relationnel.

Tout d'abord, je remercie mes parents qui ont eu le courage de me soutenir et m'accompagner tout au long de ce travail. Je sais que leur tâche a été des plus ardues, mais ils l'ont accomplie avec ferveur et acharnement. Je sais que les nuits blanches sont devenues plus courantes que les nuits de sommeil serein, et que l'inquiétude et le sentiment d'impuissance les rongeaient. Je suis navré pour cela, Papa et Maman. Bien d'autres auraient baissé les bras dès la première année, malheureusement infructueuse, de cette initiation à la recherche ; pas eux. Leur volonté de me voir réussir allait grandissant tandis que les mois s'égrenaient. Je sais aussi que cette inquiétude a atteint tous les membres de ma grande famille, que je tiens aussi à remercier d'avoir cru en moi et de m'avoir inondé de bons mots et d'encouragements. Merci Anis et Léa, merci aux tantes et aux oncles, aux cousines et aux cousins d'avoir été là. Une page entière ne suffirait pas, alors, en un mot comme en mille : merci.

Mes plus grands remerciements vont aussi à Imane I., sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour. Elle s'est démenée pour trouver le matériel nécessaire à l'accomplissement de ce mémoire qui, bien que passionnant et ô combien important, s'est avéré frustrant à réaliser. Le manque de moyens matériels à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (je parle en particulier de la spectrométrie d'absorption atomique mais également des réactifs et de la petite verrerie de laboratoire qu'il m'a fallu acheter par mes propres moyens) et/ou l'accès impossible à ce matériel lorsqu'il est présent (et ce pour d'obscures raisons) mine l'avancée de la science dans notre région, détruit les esprits des scientifiques les plus volontaires et représente un frein pour le développement socio-économique de la région. Si ce n'étaient ma hargne et le soutien moral auquel j'ai heureusement eu droit, je ne saurais dire ce qu'il serait advenu de moi. Donc merci d'avoir fini par trouver un accès, certes officieux, à ce matériel et merci d'être revenue avec d'excellents résultats dépourvus d'aberrations.

Je remercie aussi feu mon grand-père, paix à son âme, qui semblait avoir attendu le délai réglementaire pour la réalisation d'un mémoire de Master avant de rejoindre l'au-delà. Je suis navré que tu n'aies pas pu assister au dénouement de ce travail somme toute modeste

et perfectible, et te remercie de m'avoir légué cette fureur de vaincre et ton amour pour le Savoir. Je suis fier de cet héritage.

Mes plus vifs remerciements vont aussi aux enseignants de notre grande Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques qui ont toujours répondu favorablement lorsque j'étais à la recherche d'informations ou de conseils. Votre nombre est trop grand pour que je puisse citer tout le monde, mais je me souviens et me souviendrai de chacun de vous. Je veux également remercier mon promoteur et les administrateurs de notre Département de Biologie Animale pour avoir proposé un sujet aussi intéressant mais aussi pour m'avoir donné l'envie d'aller jusqu'au bout.

Je ne peux évidemment pas faire de remerciements sans penser à mes amis, qui m'ont également soutenu, conseillé et beaucoup aidé lors de la réalisation de ce travail. Merci à Nabil B., Karim A., Syphax O., Tarik D., Nassim H. et Nassim D., Chahinez K., Faiz B., Malik B., Amine W., Hammou I., Mustafa A., Ingrid V., Juba M., Adel H., Meziane M., Sarah A., Mouh A. et Moumouh A., Idir H., Ghiles G., Moh C., Rosa O., et, bien-sûr, Lynda H., pour ne citer que ceux-là.

Je vais clore cette parenthèse dédiée aux remerciements en exprimant ma plus haute gratitude aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger mon travail. Il est de notoriété publique, à tout le moins dans le milieu universitaire, que Mme Taleb est une sommité dans le domaine de la physiologie végétale, Mr Alili un expert des méthodes d'approche scientifiques, particulièrement l'approche expérimentale, tout comme l'est mon encadreur Mr Asla, et Mme Louni est réputée avoir des connaissances pointues en chimie et l'esprit aiguisé qui fait le pont entre le monde du vivant et celui de la chimie. Merci à vous toutes et tous de me faire cet honneur, je n'aurais pu espérer meilleur jury qui puisse englober chacun des domaines que mon travail chevauche afin de le juger sous tous les angles.

SOMMAIRE

Figure 1 : Différentes sources et cibles des polluants métalliques.....	16
Figure 2 : Effets majeurs des associations racines-microorganismes dans les processus biogéochimiques influençant le devenir des métaux et métalloïdes dans la rhizosphère .	22
Figure 3 : Coupe transversale d'une racine montrant le transport des éléments-traces d'une cellule à l'autre dans le végétal, par voie symplasmique et par voie apoplasmique	25
Figure 4 : Transport du zinc et du cadmium dans la cellule.....	27
Figure 5 :Schéma représentant une phytoextraction continue..	41
Figure 6: Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs.	43
Figure 7: Dispositif expérimental tel que réalisé sous la serre (photographie originelle)	55
Figure 8: Résultats de l'analyse granulométrique par tamisage et sédimentométrie.	67
Figure 9: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 7,54.	69
Figure 10: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 6,16	70
Figure 11: Courbes représentant la variation de l'absorption du plomb par les racines de colza, à pH = 5.....	72
Figure 12: Courbes de variation d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 4,63.	73
Figure 13: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 400 ppm de plomb.	75
Figure 14: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 800 ppm de plomb.	77
Figure 15: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 1200 ppm de plomb.	78
Figure 16: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la biomasse racinaire de <i>Brassica napus</i> en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 1600 ppm de plomb.	79
Figure 17: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 7,54.	81

Figure 18: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 6,16.	82
Figure 19: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 5.	84
Figure 20: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 4,63.	85
Figure 21: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 400 ppm de plomb.	87
Figure 22: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 800 ppm de plomb.	88
Figure 23: Courbes de variation de l'absorption du plomb pour la partie aérienne du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 1200 ppm de plomb.	90
Figure 24: Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 1600 ppm de plomb.	92
Figure 25: Evolution des rapports de transfert du plomb du sol vers les racines du colza en fonction du pH.....	94
Figure 26: Evolution des facteurs de translocation du plomb pour chaque dose de métal en fonction du pH du sol.	96
Figure 27: Evolution des coefficients d'extraction du plomb, en fonction du pH du sol, considérant l'ensemble des organes du colza.	98

Tableau 1 : Tableau périodique des éléments selon la classification classique de Mendeliev.	13
Tableau 2 : Teneurs naturelles moyennes en ETM de différentes roches, exprimées en ppm (mg/kg).	14
Tableau 3: Mobilité relative des éléments dans le sol en fonction du pH et du potentiel rédox	19
Tableau 4: Principales propriétés physico-chimiques du plomb :	29
Tableau 5: Gamme de concentration des polluants métalliques les plus répandus dans l'environnement aux États-Unis.	39
Tableau 6: Estimation du nombre de plantes hyperaccumulatrices :	40
Tableau 7 : Schéma du dispositif expérimental réalisé sous serre.	56
Tableau 8: Résultats de l'analyse des caractéristiques chimiques du sol.	66
Tableau 9: Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 7,54	68
Tableau 10: Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 6,16	70
Tableau 11: Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 5.	71
Tableau 12: Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 4,63.	73
Tableau 13: Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol pollué à 400 ppm en fonction de la variation du pH du sol.	75
Tableau 14: Variation des taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza ayant poussé sur un sol pollué à 800 ppm en fonction de la variation du pH du sol.	76
Tableau 15: Variation des taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza ayant poussé sur un sol pollué à 1200 ppm en fonction de la variation du pH du sol.	77
Tableau 16: Variation des taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza ayant poussé sur un sol pollué à 1600 ppm en fonction de la variation du pH du sol.	78
Tableau 17: Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 7,54	80
Tableau 18: Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 6,16	82

Liste des Tableaux

Tableau 19: Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 5.	83
Tableau 20: Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 4,63.	85
Tableau 21: Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol pollué par du plomb à une concentration de 400 ppm en fonction de la variation du pH du sol.....	86
Tableau 22: Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol pollué par du plomb à une concentration de 400 ppm en fonction de la variation du pH du sol.	88
Tableau 23: taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol pollué par du plomb à une concentration de 1200 ppm en fonction de la variation du pH du sol.	89
Tableau 24: Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol pollué par du plomb à une concentration de 1600 ppm en fonction de la variation du pH du sol.	91
Tableau 25: Coefficient d'extraction du plomb par la biomasse racinaire du colza.	93
Tableau 26: Facteur de translocation du plomb de la biomasse racinaire vers la biomasse aérienne du colza.	95
Tableau 27: Coefficient d'extraction du plomb par la plante entière.	97
Tableau 28: Résultat de l'analyse de variance de la biomasse aérienne.	99
Tableau 29: Comparaison des moyennes pour le Facteur 1 (Facteur [Pb]) : test de Newman- Keuls (seuil = 5%).	100
Tableau 30: Comparaison des moyennes pour le Facteur 2 (Facteur EDTA) : test de Newman- Keuls, seuil = 5%.....	101
Tableau 31: Comparaison des moyennes pour l'interaction des deux facteurs (interaction Facteur [Pb] * Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.....	102
Tableau 32: Résultat de l'analyse de variance de la biomasse racinaire.	103
Tableau 33: Comparaison des moyennes pour le Facteur 1 (Facteur [Pb]) : test de Newman- Keuls, seuil = 5%.....	104
Tableau 34: Comparaison des moyennes pour le Facteur 2 (Facteur EDTA) : test de Newman- Keuls, seuil = 5%.....	105
Tableau 35: Comparaison des moyennes pour l'interaction Facteur 1 * Facteur 2 (Facteur [Pb] * Facteur EDTA), test de Newman-Keuls, seuil = 5%.....	106
Tableau 36 : Résultat de l'analyse de variance à trois critères de classification.....	107

Tableau 37: Comparaison des moyennes pour le Facteur 1 (Facteur Organe de la plante) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.....	109
Tableau 38: Comparaison des moyennes pour le Facteur 2 (Facteur [Pb]) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.....	110
Tableau 39: Comparaison des moyennes pour le Facteur 3 (Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.....	110
Tableau 40: Comparaison des moyennes pour l'interaction Facteur 1 * Facteur 3 (Facteur Organe * Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.	111
Tableau 41: Comparaison des moyennes pour l'interaction Facteur 2 * Facteur 3 (Facteur [Pb] * Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.....	112
Tableau 42: Comparaison des moyennes pour l'interaction des trois facteurs (Facteur Organe * Facteur [Pb] * Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil 5%.....	113

Introduction Générale	1
------------------------------------	----------

Chapitre I : Le sol

I – Définitions du sol.....	4
II – Les principaux composants du sol.....	5
II.1 – La fraction minérale	5
II.2 – La fraction organique	5
III – Les principales caractéristiques des sols	6
III.1 – La granulométrie	6
III.2 – L’humidité caractéristique	7
III.3 – Le potentiel hydrogène ou pH.....	7
III.4 – Le potentiel d’oxydoréduction ou potentiel RedOx ou Eh	7

Chapitre II : La pollution métallique des sols

I – Définition et notions de base	9
II – Les Eléments-Trace Métalliques et la pollution métallique.....	10
II.1 – Définition des « métaux lourds ».....	10
II.2 – Origine de la contamination des sols par les métaux lourds	14
II.2.1 – Origine naturelle	14
II.2.2 – Origine anthropique.....	15
III – Mobilité des métaux lourds dans le sol	17
III.1 – Principaux facteurs abiotiques influençant la mobilité et la disponibilité des métaux.....	17
III.1.1 – La teneur en colloïdes	17
III.1.2 – La capacité d’échange cationique	18
III.1.3 – La matière organique	18

III.1.4 – Le potentiel hydrogène.....	18
III.1.5 – Le potentiel d’oxydoréduction.....	18
III.2 – Principaux facteurs biotiques influençant la mobilité et la disponibilité des métaux.....	20
III.2.1 – Principaux modes d’action des facteurs influençant la mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds	20
IV – Biodisponibilité, absorption et translocation des métaux.....	22
IV.1 – Transport des éléments-traces vers la rhizosphère	23
IV.2 – Prélèvement des métaux lourds par les racines.....	24
IV.2.1 – Voie symplasmique	25
IV.2.2 – Voie apoplasmique	27
V – Cas de la pollution au plomb.....	28
V.1 – Propriétés physico-chimiques du plomb	28
V.2 – Le plomb dans l’environnement	29
V.2.1 – Histoire de l’utilisation du plomb	29
V.2.2 – Cycle biogéochimique.....	30
V.3 – Phytodisponibilité du plomb	31
V.3.1 – Notion de phytodisponibilité	31
V.3.2 – Distribution du plomb au niveau du sol	31
V.3.3 – Facteurs influençant la phytodisponibilité du plomb.....	32
V.4 – Impact du plomb sur les végétaux	33
V.4.1 – Absorption foliaire du plomb	33
V.1.2 – Mécanismes d’adsorption sur les racines	34
IV.1.3 – Mécanismes d’absorption racinaire	34
V.5 – Effets généraux du plomb sur les végétaux.....	35

Chapitre III : Dépollution des sites et sols pollués

I – Techniques physiques et chimiques de dépollution.....	36
II – Dépollution biologique des sols	36
III – La phytoremédiation.....	37
III.1 – Principe de la technique de phytoremédiation	37
IV – La phytoextraction	38
IV.1 – La phytoextraction continue	39
IV.1.1 – Mécanismes biologiques mis en jeu lors de la phytoextraction continue	42
IV.2 – La phytoextraction induite	43
IV.2.1 – Développement de la phytoextraction induite.....	44
V – Avantages et limites de la phytoextraction	45
V.1 – Avantages	45
V.2 – Limites	46

Chapitre IV : Matériels et méthodes

I – Matériels.....	49
I.1 – Matériels physiques et chimiques	49
I.1.1 – La serre	49
I.1.2 – Les pots.....	49
I.1.3 – Polluant métallique.....	50
I.1.4 – L’agent chélateur.....	50
I.2 – Matériel biologique	50
II – Méthode d’approche	51

II.1 – L'expérimentation.....	51
II.1.1 – Le protocole expérimental.....	51
II.1.1.1 – La préparation du sol.....	52
II.1.1.2 – La pollution du sol.....	52
II.1.1.3 – Détermination des doses d'acide à appliquer au sol (EDTA).....	53
II.2 – Le dispositif expérimental.....	54
II.3 – L'analyse pédologique	57
II.4 – La minéralisation des échantillons.....	57
II.4.1 – Préparation du matériel à analyser	57
II.4.2 – Mode opératoire de la minéralisation acide.....	58
II.5 – L'analyse chimique des échantillons minéralisés.....	59
II.5.1 – Spectrométrie d'Absorption Atomique (S.A.A.)	60
II.5.1.1 – Principe de fonctionnement général	60
II.5.1.2 – La Spectrométrie d'Absorption Atomique en Flamme (SAAF)	61
II.6 – Conversion de l'unité obtenue après dosage du plomb par A.A.S., et calcul des rapports de transfert et de translocation.....	62
II.6.1 – Conversion de l'unité obtenue après dosage, du mg/L au mg/kg.....	62
II.6.2 – Calcul du rapport de transfert	63
II.6.3 – Calcul du rapport de translocation	64
 Chapitre V : Analyse et discussion des résultats	
I – Résultats de l'analyse pédologique	66
II – Interprétation des résultats du dosage en S.A.A.....	68
II.1 – Impact des doses de plomb sur l'absorption racinaire	68
II.1.1 – Première dose d'EDTA (pour un pH de 7,54).....	68
II.1.2 – Deuxième dose d'EDTA (pour un pH de 6,16)	70

II.1.3 – Troisième dose d’EDTA (pour un pH de 5)	71
II.1.4 – Quatrième dose d’EDTA (pour un pH de 4,63).....	73
II.2 – Impact du pH sur le taux d’absorption du plomb par les racines	74
II.2.1 – Première dose de plomb dans le sol ($P_1 = 400$ ppm).....	74
II.2.2 – Deuxième dose de plomb dans le sol ($P_2 = 800$ ppm).....	76
II.2.3 – Troisième dose de plomb dans le sol ($P_3 = 1200$ ppm)	77
II.2.4 – Quatrième dose de plomb dans le sol ($P_4 = 1600$ ppm)	78
II.3 – Impact des doses de plomb sur sa translocation vers la partie aérienne	80
II.3.1 – Première dose d’EDTA (pour un pH de 7,54).....	80
II.3.2 – Deuxième dose d’EDTA (pour un pH de 6,16).....	82
II.3.3 – Troisième dose d’EDTA (pour un pH de 5)	83
II.3.4 – Quatrième dose d’EDTA (pour un pH de 4,63).....	85
II.4 – Impact du pH sur les taux de plomb transloqués vers la partie aérienne	86
II.4.1 – Première dose de plomb dans le sol ($P_1 = 400$ ppm).....	87
II.4.2 – Deuxième dose de plomb dans le sol ($P_2 = 800$ ppm).....	88
II.4.3 – Troisième dose de plomb dans le sol ($P_3 = 1200$ ppm)	90
II.4.4 – Quatrième dose de plomb dans le sol ($P_4 = 1600$ ppm)	92
III – Rapports de transfert (C.E.) et rapports de translocation (F.T.) du plomb.....	94
III.1 – Rapport de transfert du plomb du sol vers la biomasse racinaire du colza....	94
III.2 – Rapport de translocation du plomb extrait depuis le sol de la biomasse racinaire vers la biomasse aérienne.....	96
III.3 – Rapport de transfert du plomb du sol vers la plante entière.....	98
IV – Analyse statistique des données.....	100
IV.1 – Analyse de variance à deux critères de classification	100
IV.1.1 – Analyse de variance pour la biomasse aérienne	100

IV.1.2 – Analyse de variance pour la biomasse racinaire	104
IV.2 – Analyse de variance à trois critères de classification (Facteur 1 Organe de la plante, Facteur 2 Dose de plomb, Facteur 3 Dose d'EDTA)	108
IV.2.1 – Tableau d'analyse de variance	108
IV.2.2 – Comparaisons de moyennes	110
V – Discussion	116
Conclusion Générale	122
Références bibliographiques	124
Annexes	

INTRODUCTION GENERALE

Pour vivre, se nourrir et s'abriter, l'Homme a toujours compté avec la nature environnante. Reconnaître les plantes comestibles et décrypter l'environnement abiotique n'étaient pas un luxe mais une nécessité, et ce depuis les premières tribus de chasseurs-cueilleurs jusqu'à une époque plus récente. Mais depuis la sédentarisation et l'apparition des premières pratiques culturelles le long du croissant fertile, il y a 8000 à 10000 ans selon les sources, l'Homme n'a eu cesse de remanier son environnement pour plier la nature à ses besoins. D'abord vivriers, en aménageant des platebandes et en détournant des cours d'eau à des fins agricoles, les besoins de l'Homme ont évolué au fil de son histoire. L'exploitation de carrières pour l'érection de cités, ou l'extraction de minerais pour la manufacture d'ustensiles et d'armes, ont ainsi marqué un tournant majeur dans l'anthropisation des milieux naturels.

Cette anthropisation, représentée par l'ensemble des processus de dégradation du relief et des sols dû à l'action de l'Homme, se traduit notamment par le dérèglement des cycles biogéochimiques et la fragmentation ainsi que la destruction d'habitats naturels à l'équilibre fragile. Pline l'Ancien notait déjà dans son Histoire de la Nature (*Historia Naturalis*) que l'exploitation de mines modifiait sensiblement le tissu vivant alentour, et il décrivait également comment certaines plantes résistaient mieux que d'autres aux conditions de vie aux abords des mines.

Les activités urbaines, industrielles et agricoles sont responsables d'une contamination croissante des sols, de l'eau et de l'air par les éléments traces métalliques, notamment le plomb. Il est dit que dans les sols, à travers le monde, les teneurs naturelles en plomb sont de 32 mg.kg^{-1} et varient entre 2 et 200 mg.kg^{-1} . Les principales sources de pollution au plomb sont actuellement l'utilisation de composés plombés comme antidétonant dans les essences, l'utilisation de plomb dans certains pesticides et principalement dans les batteries plomb/acide pour les véhicules automobiles.

Il y a encore cinquante ans, la protection de l'environnement ne faisait pas partie des préoccupations majeures de l'Homme, et l'idée même que nos actions ont toutes une conséquence sur la nature qui nous entoure n'était pas encore ancrée dans les mœurs des populations. Les études portant sur la réhabilitation des différents compartiments de la

biosphère étaient donc très peu nombreuses et rares étaient les scientifiques, à l'instar de James Lovelock et de Rachel Carson, à avoir tiré la sonnette d'alarme quant au train de vie délétère que menait l'espèce humaine. Les mœurs sont actuellement en pleine mutation, et l'idée de préserver notre environnement pour notre bien-être et celui des générations futures a fait son chemin dans les esprits grâce au travail acharné et laborieux de scientifiques de plus en plus nombreux à étudier les impacts des activités anthropiques et les moyens d'y remédier lorsque cela s'avère nécessaire.

Aujourd'hui conscient de la nécessité d'évoluer dans un environnement sain, l'Homme du XXI^{ème} siècle tend à laisser de côté sa vision anthropocentrique et cherche les moyens de réhabiliter les milieux dégradés par les activités des générations précédentes afin de léguer aux générations futures un environnement sain.

Les premiers efforts consentis par l'Homme pour rétablir l'état originel de son environnement ont concerné l'épuration des trois compartiments essentiels que sont l'eau, l'air et le sol. L'iniquité de ces trois compartiments est en effet primordiale à la survie de toutes les espèces vivantes, animales et végétales. Consommer une eau pure et respirer un air sain sont deux conditions *sine qua non* à l'établissement de la vie. Mais la salubrité du sol, support de culture de toutes nos denrées alimentaires ainsi que celles du bétail que nous élevons pour notre consommation, revêt la même importance ; l'étude et la connaissance des flux de matière et des transferts d'éléments le long de la chaîne trophique suffisent pour nous en persuader.

La protection des sols et leur épuration font donc partie des préoccupations majeures des scientifiques du XXI^{ème}. La recherche dans ce domaine se concentre aujourd'hui sur l'utilisation de moyens dégradant le moins possible la qualité des sols traités en privilégiant autant que possible l'usage d'agents biologiques afin d'arriver à un niveau de remédiation des milieux acceptable : ainsi est née l'idée de bioremédiation.

La phytoremédiation, mot constitué à partir des racines grecques « *phytos* » et « *remedion* », définit alors l'utilisation de plantes pour la stabilisation, l'immobilisation, la volatilisation ou encore l'extraction des substances polluant les sols. Dans le cas de

l'extraction des polluants du sol, nous parlerons de phytoextraction, technique particulièrement adaptée à la dépollution des sols contaminés par des métaux lourds.

Ainsi, le présent travail se propose d'étudier la capacité d'une plante, le colza (*Brassica napus*), à extraire du sol un métal le polluant à différentes concentrations, le plomb. Nous avons en outre voulu estimer ici l'effet de l'ajout d'un chélateur chimique, l'acide éthylène-diamino-tétra-acétique, sur la capacité d'extraction du plomb par le colza. Ce travail s'insère dans une optique de recherche et fait suite à de nombreux travaux réalisés par différents scientifiques et étudiants, s'inscrivant dans la même thématique, qui ont tenté de tester la dépollution des sols par l'utilisation de plantes (colza, maïs, soja) sous l'influence de divers intrants (engrais, boues d'épandage, matière organique).

Le but de ce travail est donc d'étudier la remédiation biologique des milieux pollués. Il s'agira précisément de tester la réhabilitation, *via* les plantes, des sols ayant subi une pollution métallique. Pour ce faire, ce travail s'organisera en deux parties principales.

La première partie, théorique, sera articulée autour de trois grands axes. Nous verrons d'abord les principaux types de sol et leurs caractéristiques, puis passerons en revue différents types de pollution avant de nous intéresser à la dépollution des sols par les plantes, technique biologique nommée « *phytoremédiation* ».

La seconde partie traitera du travail pratique réalisé afin de tester la dépollution d'un sol contaminé au plomb à travers l'utilisation d'une plante, le colza. Dans cette partie, le protocole expérimental mis en œuvre lors de l'étude sera présenté, et les résultats obtenus seront exposés et confrontés aux résultats des travaux publiés par différents scientifiques.

Enfin, pour conclure ce travail, nous parlerons des perspectives d'avenir liées au thème de la remédiation biologique et ouvrirons une fenêtre sur l'éventuelle application sur le terrain de cette technique naissante qu'est la phytoremédiation.

CHAPITRE I

I – Définitions du sol :

Le sol est une ressource naturelle non renouvelable en continuelle interaction avec l'hydrosphère, l'atmosphère et la biosphère ; c'est un milieu où les mondes minéral et vivant sont étroitement imbriqués. Nous devons à Georges Aubert et à Jean Boulaine la définition suivante du sol : "le sol est le produit de l'altération, du remaniement et de l'organisation des couches supérieures de la croûte terrestre sous l'action de la vie, de l'atmosphère et des échanges qui s'y manifestent" (Aubert et Boulaine, 1980). Cependant, du fait de la diversité des usages que nous en faisons, le sol n'est pas simple à définir : il y a autant de définitions que d'usages du sol.

Ainsi, pour les agronomes, le sol est la partie arable, homogénéisée par les labours et explorée par les racines des végétaux. On considère, pour les besoins de ce domaine, qu'un bon sol est constitué à 25 pourcent d'eau, 25 pourcent d'air, 45 pourcent de matière minérale et 5 pourcent de matière organique.

Les pédologues, eux, estiment que la partie arable ne représente que la pellicule superficielle du sol et qu'elle ne suffit donc pas à le définir. Le pédologue Demolon (1932) a défini le sol comme étant "la formation naturelle de surface, à structure meuble et d'épaisseur variable, résultant de la transformation de la roche-mère sous-jacente sous l'influence de divers processus - physiques, chimiques et biologiques - au contact de l'atmosphère et des êtres vivants" (Demolon, 1932). Il s'agit donc, en pédologie, d'une zone altéritique colonisée par la biosphère.

En hydrogéologie, le sol est un manteau vivant et végétalisé permettant le cycle de l'eau.

Pour un ingénieur civil, le sol est le support sur lequel sont fondés les bâtiments et construites les routes.

En écologie, le sol est un milieu tri-phasique au carrefour de la biosphère et de la lithosphère : une phase solide (minérale et organique), une phase liquide représentant la solution du sol, et une phase gazeuse ou atmosphère du sol. L'écologue considère donc le sol

comme un habitat et un élément de l'écosystème ; il est le produit et la source d'un grand nombre d'interactions chimiques, biochimiques et biologiques.

II – Les principaux composants du sol :

Le sol est constitué de deux fractions, l'une minérale et l'autre organique. Chacune de ces fractions possède ses propres caractéristiques.

II.1 – La fraction minérale :

La fraction minérale représente l'ensemble des produits de la dégradation de la roche-mère. Ces produits sont classés selon leurs diamètres respectifs ; il s'agit des sables, des limons et des argiles. Les caractéristiques physico-chimiques étudiées lors de l'analyse d'un sol, préliminaires à son utilisation, lui sont propres. Tous ces éléments constituent son "squelette".

La fraction minérale est elle-même constituée de deux fractions :

- une fraction grossière, constituée de particules dont le diamètre est supérieur à $2\mu\text{m}$ (petits graviers, limons, sables). Cette fraction est primordiale pour garder l'eau dans le sol, et sert de "réserve" qui finira par se transformer en fraction fine ;
- une fraction fine, constituée d'éléments au diamètre inférieur à $2\mu\text{m}$ (les colloïdes, dont les argiles) ; elle est chimiquement et biologiquement active.

II.2 – La fraction organique :

La fraction organique est constituée de matière organique carbonée provenant de la décomposition et du métabolisme d'êtres vivants microbiens, fongiques, végétaux et animaux. Autrement dit, il s'agit de l'humus, composé d'éléments principaux (C, H, O, N), d'éléments secondaires (S, P, K, Ca, Mg) ainsi que d'oligoéléments (B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn).

La matière organique, dont est constituée la fraction organique, est répartie en quatre groupes, selon son état :

- la matière organique vivante, qui englobe toute la biomasse en activité, qu'elle soit végétale, animale, fongique ou microbienne ;
- les débris, dits "matière organique fraîche" : ce sont les résidus végétaux, cadavres d'animaux, déjections, exsudats etc. ;
- les composés organiques intermédiaires, appelés "matière organique transitoire" ;
- les composés organiques stabilisés, ou "matière humique".

III – Les principales caractéristiques des sols :

Pour déterminer le type de sol auquel nous avons affaire, il existe des protocoles d'analyses physico-chimiques et biologiques. Chaque analyse nous donne une caractéristique, et l'ensemble de ces caractéristiques nous renseigne sur la catégorie et la qualité du sol considéré. Ainsi, les principales caractéristiques généralement étudiées sont les suivantes.

III.1 – La granulométrie :

La granulométrie a pour objet la mesure de la taille des particules élémentaires qui constituent les ensembles de grains de substances diverses (sables, ciments, farines et.), ainsi que la définition des fréquences statistiques des différentes tailles de grains dans l'ensemble étudié.

Ses utilisations sont très variées, mais c'est en Sciences de la Terre que la granulométrie trouve le plus d'applications.

Ainsi, en pédologie, elle offre une définition quantitative de l'un des caractères fondamentaux des sols : la texture. Cette texture influence la mobilité des nutriments et autres éléments présents dans le sol, ainsi que leur phytodisponibilité.

Les méthodes d'analyses granulométriques sont très variées et répondent souvent aux besoins d'une utilisation précise.

III.2 – L'humidité caractéristique :

L'humidité du sol détermine de façon essentielle la variation des caractéristiques de différents matériaux édaphiques.

Le taux d'humidité d'un sol en particulier va déterminer les caractéristiques de diffusion ou de stockage de l'eau et de ses contenants dans ce sol. Ces caractéristiques concernent aussi bien les intrants solides que liquides qui vont pénétrer dans le sol (engrais, métaux etc.).

III.3 – Le potentiel hydrogène ou pH :

Le potentiel hydrogène, ou pH, est une mesure de l'activité chimique des ions hydrogène H^+ (ou protons) en solution. Notamment, en solution aqueuse, ces ions sont présents sous la forme de l'ion oxonium H_3O^+ (également, et improprement, appelé ion hydronium).

En termes plus courants, le pH sert à mesurer l'acidité ou la basicité d'une solution.

Le pH d'un sol est le résultat de sa composition (calcaire, argileux etc.) et de ce qu'il reçoit (précipitations, amendements etc.).

Le pH d'un substrat a une grande influence sur l'assimilation des nutriments et oligoéléments par les plantes qui poussent dessus. En effet, selon nombre d'auteurs (Calvet, 2003 ; Husson, 2013), le pH optimal pour la plupart des plantes cultivées se situe entre 6,5 et 7, et les conditions favorables à la croissance des plantes entre 5,5 et 8.

III.4 – Le potentiel d'oxydoréduction ou potentiel RedOx ou Eh :

Une réaction d'oxydoréduction est une réaction chimique due au transfert complet d'électrons entre deux espèces chimiques (molécule non ionisée, ion) (Calvet, 2003).

En pédologie, en agronomie ou encore en physiologie végétale, le pH est souvent la seule variable principale prise en compte. Les agronomes se privent ainsi d'un facteur clé du fonctionnement de la culture et du sol.

Un sol « idéal » pour une culture donnée est un sol dans lequel « *l'efficacité énergétique est à son maximum, où les produits photosynthétiques peuvent être utilisés pour la croissance des plantes et des micro-organismes associés, et où la production végétale est optimisée* » (Husson, 2013). Autrement dit, dans des conditions optimales, Eh et pH se maintiennent à des niveaux favorables pour assurer l'homéostasie des cellules végétales en se rapprochant de la gamme interne Eh-pH spécifique à chaque plante.

Le potentiel d'oxydoréduction optimal est de l'ordre de 400 à 450 mV ; en dessous de 350 mV, la croissance des plantes diminue rapidement. La limite supérieure de Eh est, quant à elle, difficile à déterminer, mais, à un pH de 6,5 à 7, un potentiel RedOx de 450 à 500 mV est défavorable, avec un risque de carence minérale, de développement des pathogènes et de toxicité des métaux (Husson, 2013).

Il est à noter que ces valeurs dites optimales de pH et Eh correspondent à la transition entre les deux formes principales de l'azote dans le sol (à savoir le nitrate d'ammonium ou NO_3^- et l'ion ammonium NH_4^+) et à une bonne disponibilité des éléments nutritifs et des oligoéléments, avec un risque de toxicité minimal.

CHAPITRE II

I – Définition et notions de base :

Le terme de "pollution" désigne l'ensemble des rejets de composés toxiques que l'Homme libère dans l'écosphère, mais aussi les substances qui, sans être vraiment dangereuses pour les êtres vivants, exercent une influence perturbatrice pour l'environnement.

Un sol est dit pollué lorsqu'il contient un ou des polluants en quantités anormalement élevées, susceptibles de causer des altérations biologiques, physiques ou chimiques.

Le polluant se définit alors comme un altéragène biologique, physique ou chimique qui, au-delà d'un certain seuil, et dans certaines conditions (potentialisation), développe des impacts négatifs sur tout ou partie d'un écosystème ou de l'environnement en général (AFNOR, 1994).

La pollution du sol est donc une altération du biotope causée par l'augmentation des concentrations de produits naturellement présents ou par l'introduction de substances exogènes toxiques ou radioactives, voire d'agents biologiques pathogènes, entraînant une perturbation plus ou moins importante de l'écosystème.

Les impacts des polluants peuvent être directs ou indirects, immédiats ou différés. Le degré de la pollution est relatif à :

- La nature du polluant (mutagène, cancérigène, reprotoxique, plus ou moins dégradable ou non dégradable etc.) ;
- La capacité éventuelle du polluant à perturber le fonctionnement global de l'écosystème, capacité qui dépend grandement de la nature du polluant ;
- La nature du sol pollué, l'étendue (ou superficie) et la profondeur de la pollution. Un sol fracturé, drainant ou acide accélérera la diffusion des métaux, alors qu'un sol homogène, argileux ou basique la freinera.

De plus, un sol pollué devient à son tour une source potentielle de diffusion, directe ou indirecte, de polluants dans l'environnement. Cette diffusion peut se faire *via* l'eau, les envols de poussières, les émanations gazeuses ou encore à travers une reconcentration et un transfert de polluants par les organismes vivants.

Notons enfin la distinction faite en écologie entre contamination et pollution. En effet, en 1998, le sens des termes « pollution » et « contamination », souvent employés confusément l'un pour l'autre, est fixé par le Rapport n°42 de l'Académie des Sciences (Bourrelier et Berthelin, 1998). Le terme « contamination » qualifie un apport d'éléments de l'extérieur du site ; la conséquence en est une élévation de leur teneur originelle, sans indication sur leurs conséquences sur le comportement des organismes vivants sur ou à proximité du site. Le terme « pollution », par contre, doit être réservé à une contamination qui engendre une perturbation du milieu, ou de l'usage qui en est fait habituellement.

L'utilité de cette distinction crée toutefois le débat et ne fait pas l'unanimité dans le monde scientifique ; c'est pour cette raison que – et ce afin d'éviter la lourdeur des redondances – il sera fait un usage indistinct des deux termes dans la suite de ce travail.

II – Les Eléments-Trace Métalliques et la pollution métallique :

II.1 – Définition des « métaux lourds » :

Les éléments-traces métalliques (ou ETM), anciennement nommés « métaux lourds », sont des métaux, métalloïdes et éléments organométalliques toxiques ou toxiques au-delà d'un certain seuil, ou encore radioactifs. La dénomination « métaux lourds », qui tend à être remplacée par « ETM », est due au fait qu'une partie de ces éléments possède une masse atomique élevée et sont donc effectivement « lourds » (uranium, plomb, mercure etc.). Cependant, aucune définition stricte ne fait consensus au sein de la communauté scientifique.

D'un point de vue strictement chimique, les éléments de la classification périodique formant des cations en solution sont des métaux ; ils sont caractérisés par l'existence d'un réseau métallique à l'état solide (des ions positif dans une mer d'électrons) et par une tendance à céder des électrons.

D'un point de vue purement physique, le terme « métaux lourds » désigne les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes, soit environ 65 éléments, caractérisés par une forte masse volumique. Sous leur forme élémentaire pure, les métaux possèdent des caractères physiques communs : bonne conductivité électrique et thermique, haute densité, malléabilité et ductilité (Bargagli, 1998).

Chapitre II : La pollution métallique des sols

D'un autre point de vue, biologique, on distingue deux types de métaux en fonction de leurs effets physiologiques : les métaux essentiels et les métaux toxiques.

- Les métaux essentiels sont des éléments indispensables pour de nombreux processus cellulaires et se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (Loué, 1993). Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil ; c'est notamment le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn) (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 ni utilité ni effet bénéfique connus pour la cellule. C'est, entre autres, le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg) ou du cadmium (Cd) (Pourrut, 2008). Ils sont aussi appelés contaminants strictes (Bargagli, 1998).

En somme, pour certains auteurs, les métaux lourds sont tous les éléments métalliques (métaux vrais, métaux de transition et métalloïdes) compris entre le cuivre et le plomb dans le tableau périodique des éléments. Le fer, le chrome et l'uranium, par exemple, en sont donc exclus.

D'autres auteurs définissent comme métal lourd tout élément métallique dont la masse volumique est supérieure à un certain seuil, ce même seuil étant différent d'un auteur à un autre, passant ainsi de 4000 à 5000 kg/m³ (Adriano, 2001 ; Emsley, 2001).

Pour d'autres auteurs, est métal lourd tout élément à partir de la quatrième période du tableau périodique des éléments chimiques (Tableau 1).

Le terme de métaux lourds est donc imprécis et arbitraire. Il est utilisé pour des raisons de simplicité et recouvre des éléments ayant des propriétés métalliques (conductivité, ductilité, densité, stabilité des cations etc.) et un numéro atomique supérieur à 20 (Raskin *et al.*, 1994). Une classification plus complexe, mettant en jeu les propriétés de formation des ligands, a été proposée par Nieboer et Richardson (1980). Aucune définition satisfaisante n'a au final émergé (Mallick et Rai, 2002), sinon que ce terme implique aussi une notion de toxicité et est préférentiellement remplacé par le terme « élément trace métallique » en cause de sa présence en très faible quantité dans l'environnement (Baker et Walker, 1989).

Chapitre II : La pollution métallique des sols

Du fait de ce manque de définition, l'Union Européenne a tranché en proposant une définition qui prévaut pour le droit européen, mais qui est souvent reprise par des pays tiers : « Est métal lourd tout composé d'antimoine, d'arsenic, de cadmium, de chrome (VI), de cuivre, de plomb, de mercure, de nickel, de sélénium, de tellure, de thallium et d'étain, ainsi que ces matériaux sous forme métallique, pour autant qu'ils soient classés comme substances dangereuses » (Décision de la Commission du 03/05/2000 remplaçant la décision 94/3/CE de la directive 75/442/CEE du Conseil, relative aux déchets ; Décision 94/403/CE du Conseil, établissant une liste de déchets en application de la directive 91/689/CEE du Conseil relative aux déchets dangereux).

Ainsi, selon le Rapport d'Information au Sénat français sous l'intitulé « *Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé* », quarante et un métaux correspondent à cette définition générale, auxquels il faut ajouter cinq métalloïdes (Rapport d'Information au Sénat n°261 du 5 avril 2001).

Selon les textes législatifs allemands, la pollution par les métaux toxiques regroupe sept métaux et un métalloïde (chrome, zinc, cuivre, nickel, plomb, cadmium, mercure et arsenic) (Koller, 2004).

Chapitre II : La pollution métallique des sols

Tableau 1 : Tableau périodique des éléments selon la classification classique de Mendeliev.

CLASSIFICATION PERIODIQUE DES ELEMENTS

Période	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII				
1 couche K	1 H Hydrogène 1																	2 He Hélium 2				
2 couche L	3 Li Lithium 3	4 Be Béryllium 4															5 B Bore 5	6 C Carbone 6	7 N Azote 7	8 O Oxygène 8	9 F Fluor 9	10 Ne Neon 10
3 couche M	11 Na Sodium 11	12 Mg Magnésium 12															13 Al Aluminium 13	14 Si Silicium 14	15 P Phosphore 15	16 S Soufre 16	17 Cl Chlore 17	18 Ar Argon 18
4 couche N	19 K Potassium 19	20 Ca Calcium 20	21 Sc Scandium 21	22 Ti Titane 22	23 V Vanadium 23	24 Cr Chrome 24	25 Mn Manganèse 25	26 Fe Fer 26	27 Co Cobalt 27	28 Ni Nickel 28	29 Cu Cuivre 29	30 Zn Zinc 30	31 Ga Gallium 31	32 Ge Germanium 32	33 As Arsenic 33	34 Se Sélénium 34	35 Br Brome 35	36 Kr Krypton 36				
5 couche O	37 Rb Rubidium 37	38 Sr Strontium 38	39 Y Yttrium 39	40 Zr Zirconium 40	41 Nb Niobium 41	42 Mo Molybdène 42	43 Tc Technetium 43	44 Ru Ruthénium 44	45 Rh Rhodium 45	46 Pd Paladium 46	47 Ag Argent 47	48 Cd Cadmium 48	49 In Indium 49	50 Sn Étain 50	51 Sb Antimoine 51	52 Te Télure 52	53 I Iode 53	54 Xe Xénon 54				
6 couche P	55 Cs Césium 55	56 Ba Baryum 56	57 La Lanthane 57	58 Ce Cérite 58	59 Pr Praseodyme 59	60 Nd Néodyme 60	61 Pm Prométhée 61	62 Sm Samarium 62	63 Eu Europium 63	64 Gd Gadolinium 64	65 Tb Terbium 65	66 Dy Dysprosium 66	67 Ho Holmium 67	68 Er Erbium 68	69 Tm Thulium 69	70 Yb Ytterbium 70	71 Lu Lutétium 71					
7 couche Q	87 Fr Francium 87	88 Ra Radium 88	89 Ac Actinium 89	90 Th Thorium 90	91 Pa Protactinium 91	92 U Uranium 92	93 Np Neptunium 93	94 Pu Plutonium 94	95 Am Americium 95	96 Cm Curium 96	97 Bk Berkélium 97	98 Cf Californium 98	99 Es Einsteinium 99	100 Fm Fermium 100	101 Md Mendelevium 101	102 No Nobelium 102	103 Lw Lawrencium 103					

Hydrogène

Métaux vrais

Métaux de transition

"Métalloïdes"

Non métaux

Gaz rares

Lanthanides

Transuraniens

Légende

nombre de masse de l'isotope le plus abondant

nombre de nucléons

numéro atomique = nombre de protons

masse molaire atomique en g.mol⁻¹

symbole

nom

105

106

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142

143

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

202

203

204

205

206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

334

335

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346

347

348

349

350

351

352

353

354

355

356

357

358

359

360

361

362

363

364

365

366

367

368

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

442

443

444

445

446

447

448

449

450

451

452

453

454

455

456

457

458

459

460

461

462

463

464

465

466

467

468

469

470

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495

496

497

498

499

500

501

502

503

504

505

506

507

508

509

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

520

521

522

523

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540

541

542

543

544

545

546

547

548

549

550

551

552

553

554

555

556

557

558

559

560

561

562

563

564

565

566

567

568

569

570

571

572

573

574

575

576

577

578

579

580

581

582

583

584

585

586

587

588

589

590

591

592

593

594

595

596

597

598

599

600

601

602

603

604

605

606

607

608

609

610

611

612

613

614

615

616

617

618

619

620

621

622

623

624

625

626

627

628

629

630

631

632

633

634

635

636

637

638

639

640

641

642

643

644

645

646

647

648

649

650

651

652

653

654

655

656

657

658

659

660

661

662

663

664

665

666

667

668

669

670

671

672

673

674

675

676

677

678

679

680

681

682

683

684

685

686

687

688

689

690

691

692

693

694

695

696

697

698

699

700

701

702

703

704

705

706

707

708

709

710

711

712

713

714

715

716

717

718

719

720

721

722

723

724

725

726

727

728

729

730

731

732

733

734

735

736

737

738

739

740

741

742

743

744

745

746

747

748

749

750

751

752

753

754

755

756

757

758

759

760

761

762

763

764

765

766

767

768

769

770

771

772

773

774

775

776

777

778

779

780

781

782

783

784

785

786

787

788

789

790

791

792

793

794

795

796

797

798

799

800

801

802

803

804

805

806

807

808

809

810

811

812

813

814

815

816

817

818

819

820

821

822

823

824

825

826

827

828

829

830

831

832

833

834

835

836

837

838

839

840

841

842

843

844

845

846

847

848

849

850

851

852

853

854

855

856

857

858

859

860

861

862

863

864

865

866

867

868

869

870

871

872

873

874

875

876

877

878

879

880

881

882

883

884

885

886

887

888

889

890

891

892

893

894

895

896

897

898

899

900

901

902

903

904

905

906

907

908

909

910

911

912

913

914

915

916

917

918

919

920

921

922

923

924

925

926

927

928

929

930

931

932

933

934

935

936

937

938

939

940

941

942

943

944

945

946

947

948

949

950

951

952

953

954

955

956

957

958

959

960

961

962

963

964

965

966

967

968

969

970

971

972

973

974

975

976

977

978

979

980

981

982

983

984

985

986

987

988

989

990

991

992

993

994

995

996

997

998

999

1000

105

106

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142

143

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

202

203

204

205

206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

334

335

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346

347

348

349

350

351

352

353

354

355

356

357

358

359

360

361

362

363

364

365

366

367

368

369

370

371

372

373

374

375

376

Chapitre II : La pollution métallique des sols

II.2 – Origine de la contamination des sols par les métaux lourds :

La source d'inquiétude principale liée aux métaux lourds comme le plomb, le cadmium, le cuivre ou encore le mercure est qu'ils ne peuvent être biodégradés, et persistent donc pendant de longues périodes dans les sols. Ceci dit, leur présence dans ces sols peut être naturelle ou anthropogénique.

II.2.1 – Origine naturelle :

Les métaux lourds, naturellement présents dans les roches, sont libérés lors de l'altération de celles-ci et se concentrent au cours de la pédogénèse dans certains horizons (ou profils) pour constituer le fond géochimique (Baize, 1997 ; Bourrelier et Berthelin, 1998).

La concentration naturelle de ces métaux dans les sols issus de la dégradation de la roche-mère varie grandement selon la nature de la roche considérée, sa localisation et son âge. Le tableau 2 montre les teneurs naturelles moyennes en ETM de différentes roches.

Tableau 2 : Teneurs naturelles moyennes en ETM de différentes roches, exprimées en ppm (mg/kg) (Wedepohl, 1961 ; Vinogradov, 1962 ; *in* Perrono, 1999).

ETM	Roches cristallines		Roches sédimentaires	
	Roches neutres	Granites	Argiles et Schistes	Grès
²⁴ Cr	50	25	100	35
²⁸ Ni	55	8	95	2
²⁹ Cu	35	20	57	-
³⁰ Zn	72	60	80	16
³³ As	2,4	1,5	6,6	1
³⁴ Se	0,5	0,5	0,6	0,5
⁴² Mo	0,9	1	2	0,2
⁴⁸ Cd	-	0,1	0,3	< 0,01
⁵⁰ Sn	-	3	10	< 0,1
⁸⁰ Hg	-	0,08	0,4	0,03
⁸² Pb	15	20	20	7

II.2.2 – Origine anthropique :

La source majeure de contamination est cependant anthropique. L'utilisation des métaux dans la vie courante remonte à l'Antiquité ; cette utilisation a connu une croissance extrêmement importante lors de la Révolution Industrielle au XIX^{ème} siècle, mais, au cours de ces dernières décennies, l'apport de métaux lourds au sol dans le monde s'est grandement étendu. A l'heure actuelle, on estime cet apport à 1350000 tonnes de zinc, 939000 tonnes de cuivre, 783000 tonnes de plomb et 220000 tonnes de cadmium (Singh *et al.*, 2003).

Les principaux types de pollutions anthropiques responsables de l'augmentation des flux de métaux dans l'environnement sont la pollution atmosphérique (comprenant les rejets industriels et urbains), la pollution liée aux activités agricoles, et la pollution industrielle, détaillés ci-après :

- La pollution atmosphérique est le résultat des activités industrielles (rejets d'usine) et urbains (gaz d'échappement, usure des pneumatiques, etc.). Il faut cependant distinguer les apports diffus aériens d'origine lointaine des apports massifs localisés d'origine proche. Dans les apports diffus sont classés les poussières et aérosols (provenant des chauffages ou encore des moteurs d'automobiles). Les apports massifs localisés résultent, quant à eux, d'apports anthropiques liés aux activités industriels (qu'il s'agisse de rejets accidentels ou dus à l'absence de protection efficace contre la dispersion dans l'environnement) (Baize, 1997).
- Certaines pratiques agricoles sont aussi à l'origine de l'introduction de métaux lourds dans le sol. En effet, les produits destinés à améliorer les propriétés physico-chimiques du sol sont souvent plus riches en métaux lourds que le sol lui-même ; notons les exemples cités par Robert et Juste (1999) concernant les engrais, les composts et les boues de stations d'épuration.
- La pollution industrielle provenant des usines de production de l'activité humaine, tels que les matières organiques et graisses (industries agro-alimentaires), les produits chimiques divers (industries chimiques), les

Chapitre II : La pollution métallique des sols

matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets et sous-produits radioactifs) et la métallurgie (Godin *et al.*, 1985). Les déchets miniers et les terrils industriels sont une source particulièrement importante de pollution par le zinc, le plomb et le cadmium.

Le rôle des pratiques agricoles et industrielles dans la contamination des sols doit être pris en compte. L'accumulation et le transfert de ces éléments constitue un risque majeur pour la santé humaine *via* la contamination de la chaîne alimentaire, mais aussi pour le milieu naturel dans son ensemble (Bourrelrier et Berthelin, 1998).

En effet, ces éléments sont présents dans le sol sous des formes chimiques assez réactives et entraînent, de ce fait, des risques sanitaires supérieurs à ceux que l'on doit aux métaux d'origine naturelle, notamment parce que ceux-ci sont le plus souvent immobilisés sous des formes relativement inertes (Baize, 1997 ; Bourrelrier et Berthelin, 1998).

La figure 1 résume les différences sources de pollution métallique.

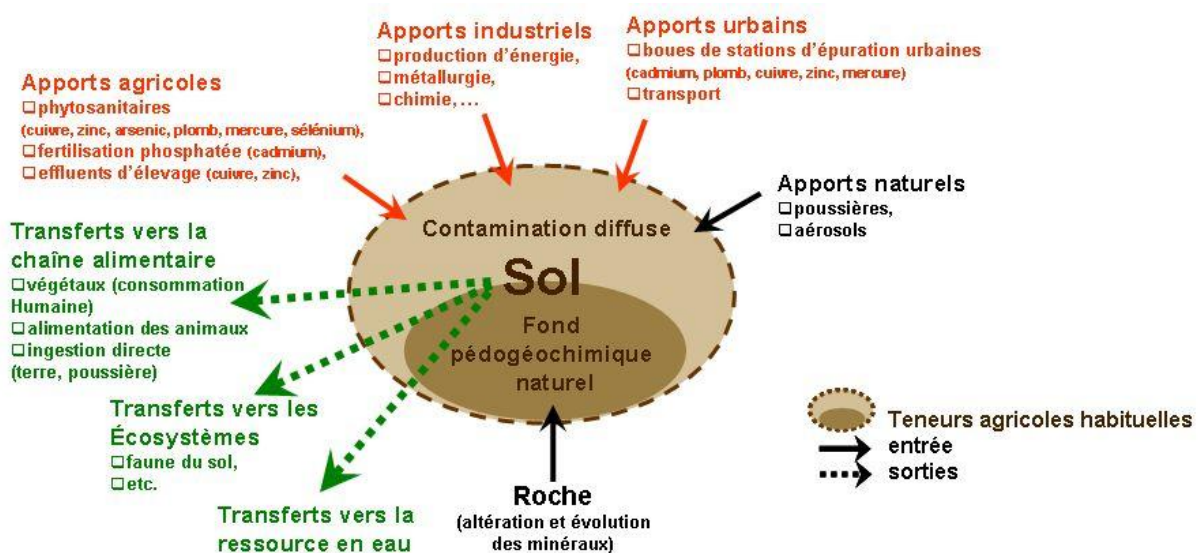


Figure 1 : Différentes sources et cibles des polluants métalliques (CNRS, 2000).

III – Mobilité des métaux lourds dans le sol :

La toxicité d'un métal dépend grandement de sa spéciation (forme chimique), mais aussi des facteurs environnementaux (Babich *et al.*, 1980). Les métaux lourds peuvent exister, dans le sol, sous forme d'ion libre ou sous forme liée à des particules du sol. Un métal n'est cependant toxique pour les organismes vivants que s'il est sous forme libre car il est alors biodisponible.

Comme tout élément chargé positivement, les cations métalliques peuvent interagir dans le sol avec toute particule, organique ou minérale, chargée négativement. La biodisponibilité d'un ion métallique, et par conséquent sa toxicité qui y est directement liée, va dépendre de l'équilibre entre ses formes libres et fixées.

La biodisponibilité des métaux varie aussi en fonction de plusieurs facteurs liés au sol, parmi lesquels nous pouvons citer la capacité d'échange cationique (CEC), le pH, le potentiel d'oxydoréduction (Eh), la teneur en matière organique (MO) etc.

III.1 – Principaux facteurs abiotiques influençant la mobilité et la disponibilité des métaux :

III.1.1 – La teneur en colloïdes :

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

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

III.1.2 – La capacité d'échange cationique :

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

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

III.1.3 – La matière organique :

Lamy (2002) a montré que les métaux lourds peuvent être adsorbés et complexés par la matière organique du sol, formant ainsi un complexe organométallique.

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

III.1.4 – Le potentiel hydrogène :

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

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

III.1.5 – Le potentiel d'oxydoréduction :

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

Chapitre II : La pollution métallique des sols

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

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

Bien que l'influence des conditions oxydoréductrices du sol semble être très importante au regard de la mobilité des éléments métalliques, il n'en demeure pas moins que ce facteur apparaît comme secondaire comparativement au pH (Deneux-Mustin *et al.*, 2003). En effet, pour un sol donné, l'Eh varie en fonction inverse du pH, c'est-à-dire qu'il augmente quand le pH diminue.

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

Tableau 3 : Mobilité relative des éléments dans le sol en fonction du pH et du potentiel rédox (Förstner, 1985).

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

III.2 – Principaux facteurs biotiques influençant la mobilité et la disponibilité des métaux :

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

Les nombreuses populations bactériennes et fongiques colonisant les sols ont des activités métaboliques influençant la mobilité, et donc la disponibilité, des métaux lourds (Robert et Chenu, 1992) ; nombre de ces phénomènes sont également communs aux plantes.

III.2.1 – Principaux modes d'action des facteurs influençant la mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds :

Les principaux modes d'action sur la mobilité des polluants métalliques sont la solubilisation, l'insolubilisation et la volatilisation :

- La solubilisation provient de la production de composés acides (tels que les acides aliphatiques, carboxyliques, nitriques etc.). Certaines bactéries (*Thiobacillus* par exemple) oxydent les formes réduites du fer et du soufre et produisent de l'acide sulfurique, susceptible de dissoudre les silicates, les phosphates, les oxydes et les sulfures, libérant ainsi les métaux lourds. De même, les champignons et les racines des plantes excrètent eux aussi des acides afin d'augmenter leur absorption de nutriments, ou comme déchets métaboliques (Foy *et al.*, 1978 ; Chaignon, 2001 ; Deneux-Mustin *et al.*, 2003). Cette acidification favorise aussi la mobilité des éléments qui ne sont pas indispensables pour le métabolisme végétal. En outre, plusieurs autres molécules organiques, capables de complexer spécifiquement certains éléments en solution, peuvent également être sécrétées, notamment en cas de carence nutritive. Les sidérophores,

composés organiques produits par les bactéries, les champignons et les racines des plantes, en sont un exemple probant. Ces molécules, de faible masse moléculaire, favorisent les déplacements d'éléments métalliques et permettent un transfert diffusif jusqu'au plantes dans lesquelles ils s'accumulent (Chaignon, 2001).

- L'insolubilisation, très peu documentée, constitue le phénomène opposé à celui décrit ci-dessus. Bien que la détoxification externe des métaux lourds par des exsudats racinaires n'ait jamais été prouvée, certains acides organiques (citons les acides citrique, oxalique ou encore fumarique) qui interviennent dans la complexation intracellulaire d'éléments nutritifs peuvent être libérés dans le milieu extérieur et auraient ainsi pour effet de limiter les transferts des éléments métalliques par des processus de complexation (Baker et Walker, 1990).
- La volatilisation, quant à elle, repose sur l'action directe qu'ont certains microorganismes sur le degré d'oxydation des certaines espèces métalliques (mercure, arsenic et sélénium). La biométhylation permet le transfert de groupements méthyl directement aux atomes, permettant ainsi leur volatilisation dans l'atmosphère (c'est principalement le cas du plomb, de l'étain, de l'arsenic, de l'antimoine et du sélénium).

Prasad et Hagemeyer (1999) ont schématisé les effets majeurs des associations plantes-microorganismes sur le devenir des éléments-traces dans la rhizosphère (figure 2).

Chapitre II : La pollution métallique des sols

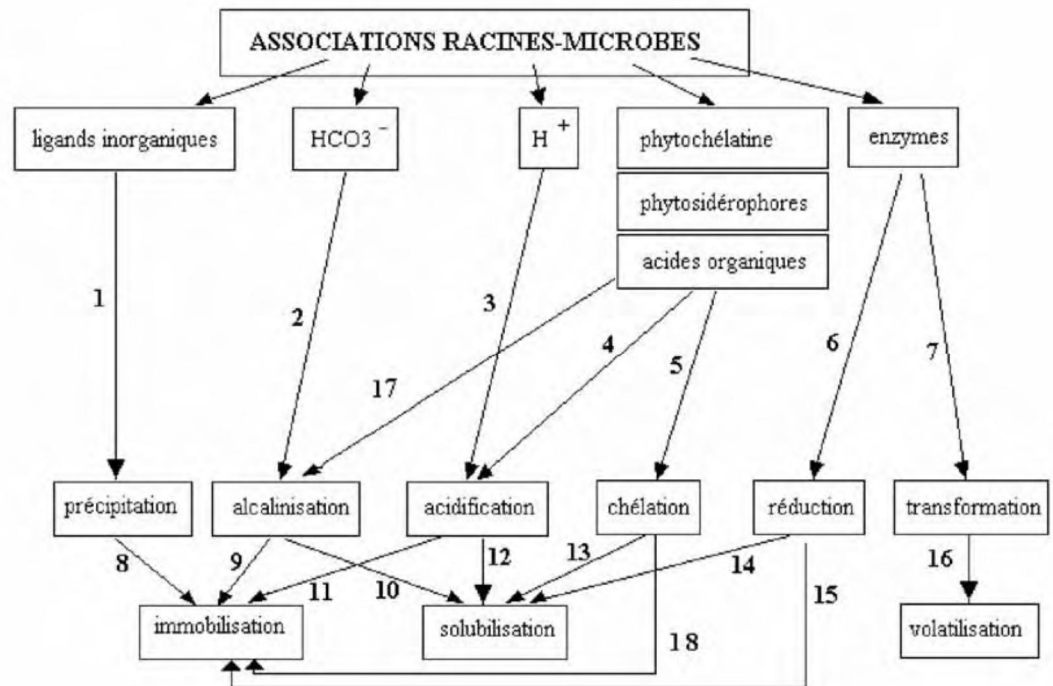


Figure 2 : Effets majeurs des associations racines-microorganismes dans les processus biogéochimiques influençant le devenir des métaux et métalloïdes dans la rhizosphère (Prasad et Hagemeyer, 1999).

Légende de la figure :

1+8 : Pb

3+11 : Mo, Cr, As, Se

3+12 : Cd, Fe

5+13 : Zn, Fe, Cu, Mn, Pb, Cd

6+14 : As, Cu, Mn, Fe

6+15 : Cr

7+16 : Se, Hg, As

9 : Cd, Zn, Ni, Mn, Pb, Cu

10 : As, Cr, Mo, Se

12 : Cd, Zn, Ni, Mn, Pb, Cu

13 : Cu, Pb, Mn, Zn, Cd

14 : As, Cu(II), Mn

15 : Cr

17+10 : Se, As

IV – Biodisponibilité, absorption et translocation des métaux :

La résistance des plantes, bien qu'indispensable à leur survie, n'est pas suffisante pour assurer une forte accumulation des métaux dans leur biomasse aérienne ; la disponibilité

biologique des éléments métalliques (ou biodisponibilité), leur absorption par les racines et leur translocation sont aussi des critères essentiels.

Selon Salt *et al.* (1998), la concentration des ions métalliques dans la solution du sol dépend principalement du pH, de la teneur en matière organique et inorganique dans le sol ainsi que de son potentiel d'oxydoréduction. Il est devenu largement admis que les sols basiques (possédant un pH élevé) favorisent l'adsorption des éléments métalliques (tels que le cadmium, le plomb ou le zinc) à la matière organique ou à d'autres constituants de la phase solide du sol (Xiang, 1989 ; Yang *et al.*, 1993). L'addition de chélateurs pour augmenter la biodisponibilité des ions métalliques devient alors essentielle pour la phytoextraction. Par ailleurs, les exsudats racinaires acides peuvent contribuer à l'abaissement du pH du sol et, par conséquent, à l'augmentation de la biodisponibilité des métaux au niveau de la rhizosphère (Mench et Martin, 1991).

Les plantes ont développé plusieurs stratégies pour augmenter la biodisponibilité des oligoéléments essentiels ; ceci est illustré par les mécanismes mis en œuvre pour acquérir le fer et d'autres éléments minéraux. Ces stratégies comprennent la production de chélateurs de métaux appelés phytosidérophores (tels que les acides mugénique et avénique) (Cakmak *et al.*, 1996). Au niveau de la rhizosphère, les phytosidérophores fixent et mobilisent le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse (Römheld, 1991). Le passage à travers la membrane cellulaire se fait alors sous forme de complexe métal-phytosidérophore grâce à des transporteurs spécialisés (Vonwiren *et al.*, 1994 et 1995).

IV.1 – Transport des éléments-traces vers la rhizosphère :

Les éléments-traces métalliques sont transférés vers la rhizosphère par deux processus :

- Diffusion : la plante, en prélevant un élément, conduit à une diminution de la concentration de cet élément dans la solution du sol proche de la racine, donc à la création d'une différence de concentration entre la rhizosphère et le sol plus lointain. L'élément va se déplacer spontanément vers la racine, sur de courtes distances (0,1 – 15 mm). C'est le principal processus pour les éléments-traces

lorsque la solution du sol n'est pas très concentrée en ces éléments (Barber, 1984 ; Morel, 1985).

- Flux de masse : la plante, ayant de gros besoins en eau, absorbe les solutés en même temps que l'eau qui lui est nécessaire. Ce prélèvement d'eau provoque une différence de potentiel hydrique entre la rhizosphère et le sol plus lointain, conduisant ainsi à des mouvements d'eau accompagnés des éléments solubles, du sol vers la racine. Ce transport se fait sur des distances plus importantes que lors du processus de diffusion (quelques centimètres) (Barber, 1984 ; Morel, 1985).

IV.2 – Prélèvement des métaux lourds par les racines :

Les métaux lourds sont prélevés sous des formes cationiques. Selon Prasad et Hagemeyer (1999), ces éléments sont d'abord véhiculés dans l'apoplaste des racines, puis :

- Une partie est transportée plus loin à l'intérieur des cellules ;
- Une partie est transportée plus loin dans l'apoplaste ;
- Une partie se fixe aux substances des parois cellulaires.

Les métaux lourds peuvent circuler à l'intérieur des racines de deux façons, par la voie symplasmique et par la voie apoplasmique (Barber, 1995). Ceci est illustré dans la figure 3.

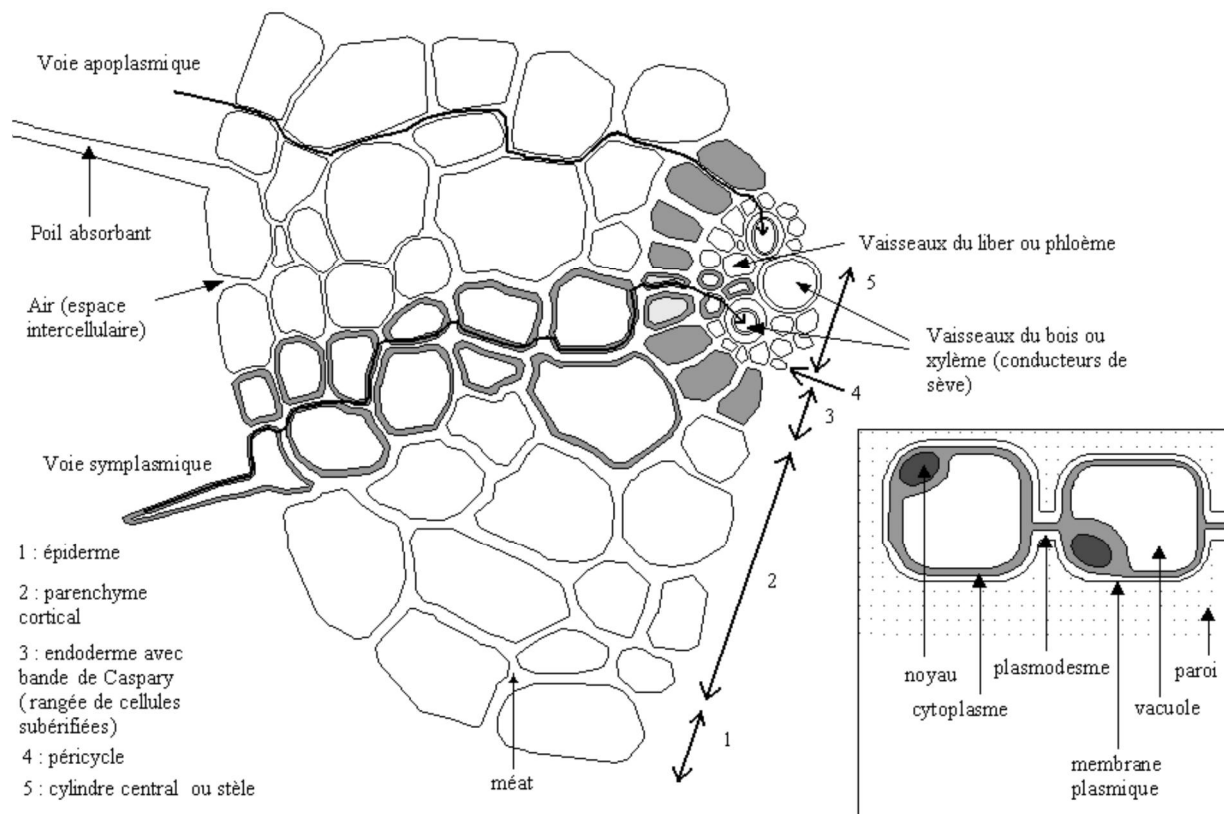


Figure 3 : Coupe transversale d'une racine montrant le transport des éléments-traces d'une cellule à l'autre dans le végétal, par voie symplasmique et par voie apoplasmique (d'après Bargagli, 1998).

IV.2.1 – Voie symplasmique :

Il s'agit dans ce cas d'une réelle absorption de l'élément par la cellule végétale : le métal traverse la paroi, puis la membrane plasmique, et se déplace de cellule en cellule par les plasmodesmes, représentant les voies de communication entre les cellules. D'après Barber (1995), l'absorption se fait de trois manières :

- Une absorption passive, réalisée spontanément le long d'un gradient électrochimique des ions et ne requérant pas d'énergie ;
- Une absorption passive demandant une dépense d'énergie de la part de la cellule, par exemple pour le fonctionnement d'une pompe à protons excréant des ions H^+ vers l'extérieur de la cellule lorsque des ions sont absorbés, maintenant ainsi le gradient électrochimique ;

- Une absorption active avec dépense d'énergie et transporteur impliquant une sélection des ions absorbés ; le transport des ions négatifs est actif et couplé à une sortie de OH^- (Barber, 1995). Certains de ces transporteurs, ayant une faible spécificité, seraient capables de véhiculer les ions indésirables (de Haan Visser-Reyneveld, 1996). Ainsi, les métaux non essentiels (cadmium, titane etc.) auraient les mêmes sites de prélèvement que les métaux essentiels (zinc, potassium etc.) (Cataldo *et al.*, 1987).

Le prélèvement de certains métaux semble donc être aussi bien passif, partiellement passif qu'actif (Prasad et Hagemeyer, 1999). En se fixant aux charges négatives des macromolécules (qu'elles soient solubles ou qu'elles fassent partie des structures cellulaires), les métaux peuvent s'accumuler dans le cytoplasme, la quantité de métal accumulé dépendant de l'espèce végétale et du métal (Prasad et Hagemeyer, 1999). Les plantes peuvent cependant opérer une détoxification cytosolique par rapport au zinc, au cadmium et au plomb, en les transportant dans certains compartiments de la cellule comme les vacuoles, où ils ne peuvent plus interférer avec les processus métaboliques essentiels (Prasad et Hagemeyer, 1999). La figure 4 illustre l'absorption du zinc et du cadmium et met en évidence les rôles joués par les phytochélatines et les acides organiques.

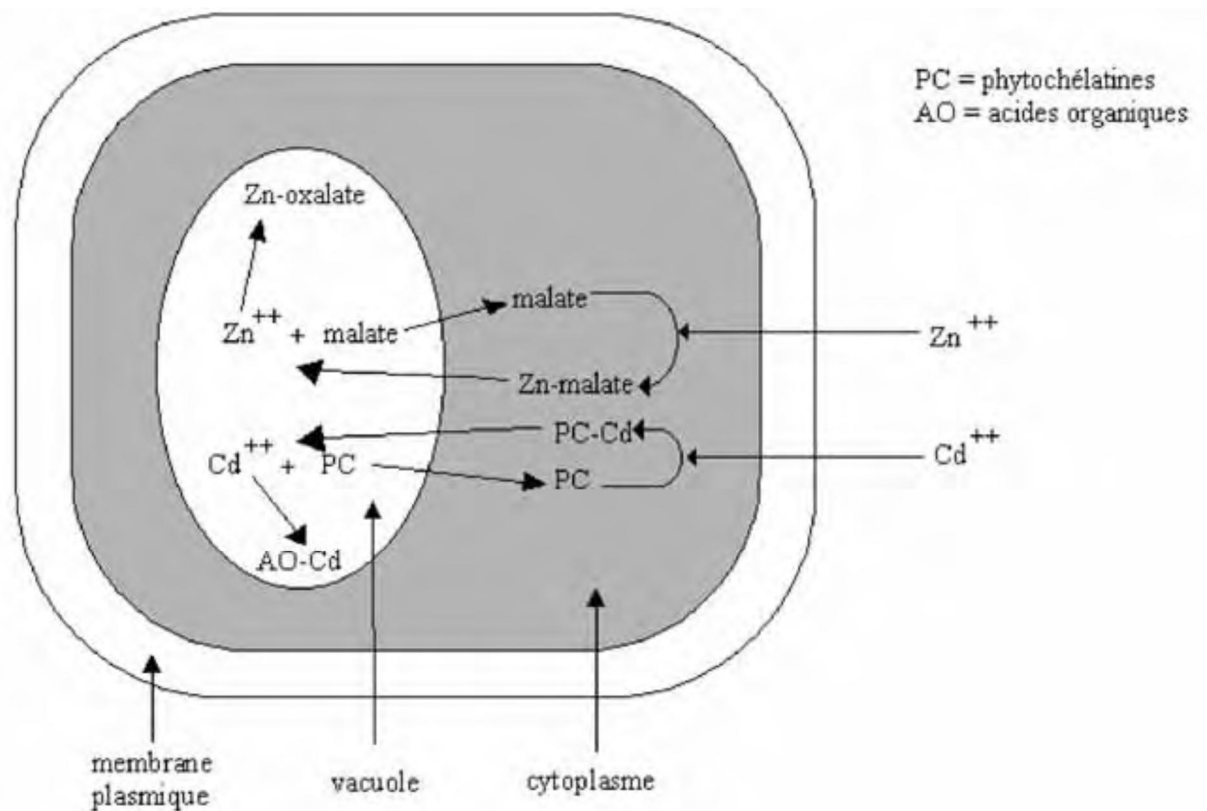


Figure 4 : Transport du zinc et du cadmium dans la cellule (Prasad et Hagemeyer, 1999).

IV.2.2 – Voie apoplasmique :

L'apoplasme, constitué de la paroi perméable des cellules et des espaces intercellulaires, représente 10 à 15 % du volume de la racine. La pénétration apoplasmique d'un élément n'est pas une réelle absorption de celui-ci puisqu'il n'est pas à proprement parler dans la cellule végétale. On dit alors que l'élément est prélevé par la plante et non absorbé par elle.

Ce type de transport est arrêté, après une dizaine de cellules, par une rangée de cellules dont la paroi est subérisée (c'est-à-dire recouverte d'une substance lipidique imperméable, le suber) (Morel, 1997).

La suite du transport vers le xylème se fait alors par l'intérieur des cellules et nécessite donc une absorption réelle et une dépense d'énergie, les éléments pouvant ensuite être transportés vers les parties aériennes de la plante par le xylème.

La voie de transport apoplasmique peut, pour certains éléments-traces chargés positivement qui pénètrent difficilement dans la cellule végétale ou qui se lient fortement à des composés de la paroi globalement chargée négativement, être une voie prédominante et n'est donc pas à négliger. Morel (1997) a défini la notion de capacité d'échange cationique (CEC) de la paroi des cellules végétales. Selon l'auteur, la forte affinité entre les composés de la paroi et certains éléments pourrait expliquer pourquoi certains cations (tels que le plomb, le cuivre, le cadmium ou le zinc) ont tendance à s'accumuler dans les racines.

V – Cas de la pollution au plomb :

V.1 – Propriétés physico-chimiques du plomb :

Le plomb est un métal se trouvant habituellement en petite quantité dans la croûte terrestre qui appartient au groupe IVb de la classification périodique des éléments. Sa configuration électronique (voir tableau 4) autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0), *via* les deux électrons libres présents sur sa couche électronique externe.

Le cation Pb^{2+} est un acide au sens de Lewis car il est susceptible d'accepter un doublet d'électrons venant d'une base pour former une liaison covalente. C'est aussi une espèce chargée susceptible d'interactions électrostatiques avec des ions de signe contraire pour former une liaison ionique (Sposito *et al.*, 1982).

Le type de liaison est important car il permet de juger de la stabilité du complexe : une liaison covalente lie plus fortement les atomes entre eux qu'une liaison ionique.

Chapitre II : La pollution métallique des sols

Tableau 4 : Principales propriétés physico-chimiques du plomb :

Symbole	Pb
Numéro atomique	82
Masse atomique	207,2 g.mol ⁻¹
Point de fusion	327°C
Point d'ébullition	1740°C
Densité	11.35
Configuration électronique	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² 6p ²
Valence	0, +2, +4
Rayons ioniques :	
Pb²⁺	0,94 à 1,49 Å
Pb⁴⁺	0,78 à 0,94 Å

V.2 – Le plomb dans l'environnement :

V.2.1 – Histoire de l'utilisation du plomb :

Le plomb a été l'un des premiers métaux utilisés par l'Homme, et ce dès l'âge de bronze il y a plus de 7000 ans (Settle et Patterson, 1980). Sa relative disponibilité et ses propriétés physico-chimiques (malléabilité, ductilité, bas point de fusion, propriétés anticorrosives) ont fait la notoriété du plomb à l'Antiquité et ont entraîné sa large utilisation, tant par les Grecs que par les Romains, comme pigment (oxyde de plomb) ou pour la réalisation de canalisations, de toitures, de vaisselle, de pièces de monnaie etc.

L'utilisation du plomb a ensuite explosé au cours de la Révolution Industrielle. La première moitié du XX^{ème} siècle a connu une forte utilisation de ce métal dans l'industrie, l'imprimerie et les peintures. Dans la seconde moitié du siècle, l'utilisation dominante du plomb était liée aux carburants (ajouté comme agent antidétonant), puis aux accumulateurs (automobiles et industriels).

Depuis les années 1970, la prise en compte de problèmes environnementaux et de santé publique a conduit à la diminution voire à l'arrêt de certaines utilisations du plomb

(canalisations, soudure, peinture, pesticides etc.). Dans les pays industrialisés, la production secondaire à partir de la valorisation des déchets ne cesse de progresser par rapport à la production primaire à partir de minerai. Durant l'année 2005, 300000 tonnes de plomb ont été produites en France, dont 94,5% provenait du recyclage de ce métal (ADEME, 2006).

V.2.2 – Cycle biogéochimique :

Le plomb trouvé dans l'environnement provient à la fois de sources naturelles et anthropiques ; le métal est présent dans le sol, mais également dans tous les autres compartiments.

Le plomb a une teneur moyenne dans la croûte terrestre de 0,002 % ; il est le 36^{ème} élément le plus présent et est retrouvé dans la plupart des roches mères. Sa présence naturelle dans le sol est essentiellement due à sa mise en disponibilité par des processus d'altérations chimiques des roches le contenant. En l'absence de toute action anthropique, les teneurs naturelles moyennes des sols en plomb sont de 32 mg.kg⁻¹ (Pais et Benton Jones, 2000). Cependant, dans le cas d'anomalies géochimiques comme les paléosols ferralitiques dits « terres rouges », cette teneur peut atteindre plus de 3000 mg.kg⁻¹.

Les activités humaines sont à l'origine d'un flux de plomb très important pouvant conduire à des contaminations locales aiguës. Selon Nriagu (1990), ce flux représenterait, en 1980, 332000 tonnes par an, contre 12000 tonnes par an d'origine naturelle. Miquel (2001) met en évidence que l'enrichissement moyen annuel en plomb des terres émergées, à l'échelle de la planète, s'effectue en grande partie (68 %) par le biais des retombées atmosphériques

Le plomb est un élément réputé peu mobile comparativement à d'autres métaux en traces (Bourrellet et Berthelin, 1998). A l'interface entre la lithosphère et la biosphère, le cycle biogéochimique du plomb dépend des caractéristiques physico-chimiques du sol : le métal tend à former des complexes particulièrement stables. En conséquence, il va être stocké en grande partie dans le sol. Toutefois, une fraction mobile peut être absorbée par les organismes vivants et rentrer ainsi dans la chaîne alimentaire. Une petite partie de ce plomb peut également être entraînée dans les rivières et les lacs lors du processus d'érosion qui arrache les particules de sol liées au plomb et les entraîne par ruissellement vers les hydrosystèmes de surface (Ariès, 2001).

V.3 – Phytodisponibilité du plomb :

Les plantes peuvent absorber le plomb présent dans le sol par l'intermédiaire de leurs racines ; une partie de ce métal, présent dans les retombées atmosphériques et dans les amendements agricoles, peut également être absorbée par les feuilles des végétaux.

V.3.1 – Notion de phytodisponibilité :

La notion de phytodisponibilité découle de la notion de biodisponibilité définie par Baize (1997) comme étant « l'aptitude d'un élément à être transféré d'un compartiment du sol vers un organisme vivant ». Selon Hinsinger *et al.* (2005), « est disponible 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).

V.3.2 – Distribution du plomb au niveau du sol :

Le comportement du plomb dans la solution du sol et aux interfaces solution/solide et solution/plante dépend d'un très grand nombre de paramètres biogéochimiques liés à la nature du sol (pH, teneur en argile, capacité d'échange cationique etc.), au contexte microbiologique et aux formes chimiques du métal présentes dans la solution du sol ou associées à la phase solide (Cecchi, 2008). Notons toutefois que la mobilité du plomb va être particulièrement conditionnée par la teneur en phases adsorbantes du sol (matière organique, argile, oxydes etc.), ce métal possédant en effet une forte affinité pour ces constituants du sol (Ross, 1994).

Le plomb va donc se retrouver :

- Inclus dans des minéraux primaires hérités de la roche mère ou dans des minéraux secondaires,
- Adsorbé à la surface de la matière organique du sol,

- Adsorbé à la surface des méso et microorganismes du sol ou absorbés par eux,
- Dans la solution du sol, associé à des colloïdes,
- Dans la solution du sol, complexé par des molécules organiques ou sous forme libre ; les principales espèces du plomb présentes dans la solution étant Pb^{2+} et PbCO_3 (BRGM, 2004).

Ces formes solubles, bien que minoritaires, ont un rôle fondamentale puisque les racines prélèvent uniquement le plomb dans la solution du sol (Bourrelier et Berthelin, 1998).

V.3.3 – Facteurs influençant la phytodisponibilité du plomb :

De nombreux facteurs influencent la solubilisation du plomb et son passage dans la solution du sol (Hinsinger, 2001 ; Lombi *et al.*, 2001 ; Cecchi, 2008).

Les deux facteurs les plus importants dans la phytodisponibilité du plomb sont la teneur en matière organique du sol et le pH de celui-ci ; la disponibilité du métal étant en effet fortement corrélée à ces deux paramètres (MacBride *et al.*, 1997 ; Lee *et al.*, 1998). La fraction minérale n'intervient de façon importante dans la mobilité du mal que lorsque le sol contient peu de matière organique et a une teneur importante en oxydes métalliques (Pulford *et al.*, 1982). De très nombreuses études ont montré que l'autre paramètre important est le pH du sol (MacBride *et al.*, 1997 ; Lee *et al.*, 1998 ; Yang *et al.*, 2006). Il influence fortement la spéciation du métal, mais également les interactions entre celui-ci et les différents composants du sol. La mobilité du plomb est plus grande dans les milieux acides, alors que sa solubilité diminue avec l'élévation du pH. Gerriste et Van Driel (1984) ont démontré l'existence de relations linéaires entre la constante d'absorption du plomb, les teneurs en matière organique et le pH des sols étudiés.

De plus, la plante influence grandement les propriétés physico-chimiques de la rhizosphère. Elle y prélève l'eau et les éléments nutritifs nécessaires à son développement et à sa croissance, et libère diverses substances minérales et organiques telles que les exsudats, les sécrétions et excréctions racinaires. La plante modifie ainsi le pH de la rhizosphère. Le prélèvement des nutriments par les racines affecte ce pH en libérant des ions H^+ (pour prélever des cations comme NH_4^+) ou OH^- (pour prélever des anions comme NO_3^-) dans le milieu (Hinsinger, 2001 ; Lasat, 2002).

D'autres paramètres peuvent également modifier la phytodisponibilité du plomb. En effet, les paramètres physico-chimiques d'un sol influencent fortement l'activité biologique se déroulant en son sein. Cette activité biologique modifie en retour les paramètres du sol (comme le pH ou la structure), et joue ainsi un rôle dans la biodisponibilité du plomb par des processus de biosorption, de bioaccumulation et de solubilisation, ce qui fait du pH rhizosphérique un facteur de moindre importance quant à la mobilité du métal (Lasat *et al.*, 2002 ; Tao *et al.*, 2005). Pour Wu et ses collaborateurs (2003), ainsi que pour Yang *et al.* (2006), les éléments organiques présents dans la rhizosphère et l'activité microbiologique de celle-ci semblent jouer un rôle plus important que l'acidification car les acides organiques (comme l'acide citrique ou l'acide oxalique) ont la capacité de désorber le plomb et de favoriser sa solubilisation dans le sol.

Plusieurs auteurs ont également mis en évidence la capacité de certains sidérophores microbiens à désorber le plomb (Kraemer *et al.*, 1999 ; Dubbin et Louise Ander, 2003), démontrant ainsi l'importance des microorganismes telluriques dans les mécanismes de solubilisation du plomb. Par ailleurs, ces résultats ont été confirmés par de nombreuses expérimentations de phytoremédiation de sols pollués en plomb assistées par une bioaugmentation de la biomasse microbienne du sol (Lebeau *et al.*, 2008).

V.4 – Impact du plomb sur les végétaux :

V.4.1 – Absorption foliaire du plomb :

Du plomb peut être apporté sur les feuilles des végétaux par des retombées atmosphériques ou par l'usage dans les champs d'intrants agricoles (plomb sous forme d'impuretés dans les engrais et les pesticides). 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). La capacité des plantes à absorber le plomb disponible *via* leurs feuilles dépend à la fois de l'âge de celles-ci, mais aussi de leur morphologie : les feuilles pubescentes ont en particulier la capacité de fixer et d'absorber ce plomb (Godzik, 1993). Dans le cas de légumes-feuilles ou de céréales, 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 (Delenberg et Van Driel, 1990). L'assimilation du plomb par la voie foliaire peut donc représenter une part importante du taux de contamination de la plante.

V.1.2 – Mécanismes d'adsorption sur les racines :

Les couches supérieures du cortex racinaire (rhizoderme et collenchyme/parenchyme) constituent une barrière physique contre la pénétration du plomb dans la racine. Les mécanismes par lesquels ce métal arrive à pénétrer dans les racines ne sont pas encore totalement élucidés (Cecchi, 2008), mais il est admis que, dans un premier temps, le plomb présent dans la solution du sol s'adsorbe à la surface de l'organe souterrain. Pour Glinski et Lipiec (1990), ainsi que pour Sharma et Dubey (2005), le plomb peut se lier aux groupements carboxyles des acides uroniques composant le mucilage racinaire, ou 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 jouent un rôle de barrière physique moins important que pour les autres métaux (Ye *et al.*, 2000).

Hall (2002) a montré que les mycorhizes pouvaient modifier l'adsorption des métaux à la surface des racines : ces métaux se lient aux parois des hyphes fongiques qui constituent une barrière supplémentaire protégeant le système racinaire du plomb. Néanmoins, l'effet protecteur des mycorhizes n'est pas certain et dépend des souches de champignons considérées, des espèces végétales étudiées et de la concentration en plomb du milieu (Jentschke et Godbold, 2000).

IV.1.3 – Mécanismes d'absorption racinaire :

Différents travaux (Tanton et Crowdy, 1971 ; Glater et Hernandez, 1972 ; Lane et Martin, 1977 ; Wierzbicka, 1987 ; Tung et Temple, 1996) réalisés sur différents végétaux de consommation humaine (légumes et céréales) ont révélé que le plomb, après s'être fixé au rhizoderme, pénétrait le système racinaire de façon passive en suivant le système de

conduction de l'eau. Cette absorption n'est cependant 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).

Tout comme c'est le cas pour les autres métaux, la pénétration du plomb dans les racines peut se faire selon plusieurs voies, notamment par des canaux ioniques et des transporteurs ioniques. Le plomb profiterait de la non-spécificité de certains de ces canaux et transporteurs et de la très forte différence de potentiel membranaire pour diffuser à l'intérieur de la racine (Hirsch *et al.*, 1998).

Bien qu'il existe quelques espèces de plantes capables de transférer de grandes quantités de plomb vers les parties aériennes, la très grande majorité de ce métal restera dans la racine (Huang et Cunningham, 1996 ; Huang *et al.*, 1997). La racine agit comme une barrière très efficace contre les mouvements du plomb à l'intérieur de la plante, ce phénomène de barrière n'étant pas commun à tous les ETM et son intensité étant très spécifique au plomb (Cecchi, 2008).

Une fois pénétré dans le système racinaire, la diffusion radiale du plomb se fera par les mêmes voies que pour les autres métaux : par la voie apoplastique, et par la voie symplastique.

V.5 – Effets généraux du plomb sur les végétaux :

Bien que faible et rapidement séquestrée dans les cellules, la fraction de plomb pénétrant dans la symplaste cause une grande diversité d'effets néfastes dans les plantes. Ces effets, ayant fait l'objet de très nombreuses études et revues bibliographiques (Singh *et al.*, 1997 ; Seregin et Ivanov, 2001 ; Patra *et al.*, 2004 ; Sharma et Dubey, 2005), varient fortement en fonction de la durée d'exposition au polluant, de l'intensité du stress métallique, du stade de développement de la plante, des organes considérés ainsi que des espèces végétales étudiées.

CHAPITRE III

Chapitre III : Dépollution des sites et sols pollués

Le sol est un compartiment de l'écosystème possédant de multiples fonctions comme : support pour les organismes et microorganismes vivants, réservoir de matière organique et minérale, lieu de transformations, système épurateur, régulateur des flux et des échanges dans les cycles biogéochimiques (Gobat *et al.*, 1998). Les nombreux cas de pollution par les métaux lourds génèrent autant de sites contaminés qu'il faut réhabiliter. Pour ce faire, plusieurs techniques ont vu le jour dans la deuxième moitié du XX^{ème} siècle et sont en perpétuel perfectionnement.

I – Techniques physiques et chimiques de dépollution :

Lorsque le risque pour les écosystèmes et l'Homme est élevé, la dépollution s'impose. Confiner les sites pollués à l'aide de barrières physiques ne suffit pas, car ces barrières n'éliminent pas les substances toxiques et nécessitent une surveillance et un entretien constants. C'est pourquoi des méthodes physico-chimiques permettant la décomposition des polluants ont vu le jour. Ces méthodes sont radicales pour se débarrasser de certains polluants, notamment à travers l'incinération et le lavage chimique des sols.

Les méthodes physico-chimiques de dépollution des sites pollués, utilisées *in situ* et *ex situ*, présentent l'inconvénient d'être coûteuses et lourdes à mettre en œuvre (Raskin *et al.*, 1994 ; Salt *et al.*, 1995 ; Gadd, 2000). De plus, elles perturbent fortement l'activité biologique des sols, altèrent la structure physique de ces derniers, et laissent souvent un sol totalement stérile.

Le besoin de nouvelles techniques économiquement compétitives et pouvant préserver les caractéristiques du sol s'est fait sentir et l'utilisation des biotechnologies s'est avérée être une alternative intéressante. La capacité de certaines à tolérer ou même à accumuler des métaux a permis d'ouvrir de nouvelles voies de recherche sur le traitement des sols.

II – Dépollution biologique des sols :

Depuis quelques décennies, l'Homme prend conscience du rôle central qu'il a tenu et tient toujours dans l'introduction de substances totalement étrangères au monde vivant, dites « xénobiotiques ». Ces polluants ont contaminé les sols à différents niveaux et intensités.

Les microorganismes telluriques éliminent plus ou moins bien et plus ou moins vite les polluants organiques biodégradables, ainsi que certains hydrocarbures, mais les métaux

lourds (tels que le plomb, le mercure ou le cadmium) et les métalloïdes (sélénium, arsenic) persistent dans l'environnement et finissent inévitablement par s'accumuler dans les différents compartiments de la biosphère. Ils parviennent souvent à migrer vers les eaux souterraines ou à pénétrer la chaîne alimentaire *via* les végétaux ou s'accumuler au fil du temps (on parle de bioaccumulation) dans les animaux, voire l'Homme.

La bioremédiation, c'est-à-dire l'utilisation de procédés biologiques pour éliminer les polluants qui contaminent les milieux et perturbent le cycle biogéochimique des substances naturelles, est une option avantageuse pour réduire la pression exercée par les polluants sur l'environnement. Il s'agit d'utiliser des systèmes biologiques pour diminuer les niveaux de pollution présents dans l'air, l'eau ou le sol : ce sont des microorganismes ou des plantes qui sont utilisés comme systèmes biologiques.

III – La phytoremédiation :

La phytoremédiation est définie comme l'utilisation des plantes pour éliminer ou transformer les polluants en composés moins toxiques (Cunningham et Ow, 1996 ; Cunningham *et al.*, 1996 ; Chaney *et al.*, 1997 ; Raskin *et al.*, 1997 ; Salt *et al.*, 1998).

Bien que les plantes soient utilisées depuis longtemps pour dépolluer les sols, d'importantes découvertes scientifiques réalisées au cours des deux dernières décennies ont contribué à améliorer le processus et à étendre son champ d'application. La phytoremédiation peut aussi bien être utilisée contre les polluants organiques que les polluants inorganiques présents dans les milieux solides (sols), liquides (eaux de surface ou souterraines) et gazeux (air).

III.1 – Principe de la technique de phytoremédiation :

Les types de stratégies de phytoremédiation, particulièrement utilisés dans la dépollution des métaux lourds, sont décrits ci-après :

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

- La rhizofiltration : utilisation des racines pour absorber et accumuler les métaux des eaux usées ou contaminées ;
- La phytostabilisation : utilisation des plantes pour limiter l'érosion des sols et immobiliser les polluants dans les couches superficielles en évitant en particulier leur migration vers les eaux de surface ou les eaux souterraines. Cette technique est utile pour réduire la biodisponibilité des polluants par les écoulements latéraux ou de profondeur, ou immobiliser les composés polluants en les liant chimiquement par précipitation, stabilisation, absorption ou piégeage de ceux-ci par la plante (Cunningham *et al.*, 1995) ;
- La phytovolatilisation : utilisation des plantes pour extraire les polluants des sols et les transformer en composés volatiles peu ou pas toxiques, avant de les relâcher dans l'atmosphère *via* les feuilles (McGrath, 1998) ;
- La phytodégradation : utilisation de l'association plante-microorganismes pour dégrader les polluants organiques des sols ;
- La phytoextraction : utilisation de plantes capables d'extraire et d'absorber les métaux lourds présents dans le sol puis de les transférer et de les concentrer dans les organes végétaux destinés à la récolte (feuilles, tiges et racines). Les métaux lourds vont se complexer avec des acides organiques ou des acides aminés synthétisés par la plante. Les métaux lourds sont ensuite récupérés en compostant ou, mieux, en incinérant la biomasse de la plante (McGrath, 1998).

IV – La phytoextraction :

Parmi les différentes méthodes de phytoremédiation, la plus utilisée est la phytoextraction ; elle a été appliquée en particulier pour la dépollution des métaux lourds. C'est la voie dans laquelle les chercheurs se sont investis depuis le début de cette décennie ; ceci pourrait s'expliquer par la facilité de détection de ces éléments métalliques (absorption atomique) dans les différents matériaux (sol et matière organique). La phytoextraction utilise des plantes capables de prélever les éléments traces toxiques et de les accumuler dans les parties aériennes qui seront ensuite récoltées et incinérées. Les cendres seraient alors mises en décharge ou, mieux, réutilisées en métallurgie ou incorporées dans de l'asphalte. Cette technique représente une alternative sérieuse, ou un complément, aux traitements physico-chimiques des sols contaminés par les métaux lourds.

Chapitre III : Dépollution des sites et sols pollués

La liste des métaux les plus connus pour leurs effets toxiques, et susceptibles de polluer le sol, est présentée dans le tableau 5. Les éléments sont classés par les auteurs (Salt *et al.*, 1998) selon leur importance dans la pollution de l'environnement aux États-Unis.

Tableau 5 : Gamme de concentration des polluants métalliques les plus répandus dans l'environnement aux États-Unis (Salt *et al.*, 1998).

Eléments	Gamme de teneurs ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Limite réglementaire (mg.kg^{-1})
Métal		
Plomb	1 000 – 6 900 000	600
Cadmium	100 – 345 000	100
Arsenic	100 – 102 000	20
Chromium	5 – 3950 000	100
Mercure	0,1 – 1 800 000	270
Cuivre	30 – 550 000	600
Zinc	150 – 500 0000	1500

Deux stratégies sont actuellement développées dans la phytoextraction. Il y a d'une part la phytoextraction assistée par des chélateurs de métaux (phytoextraction induite), et d'autre part la phytoextraction continue (Salt *et al.*, 1998 ; Cooper *et al.*, 1999).

Parmi ces deux procédés, la phytoextraction assistée (ou induite) est la plus développée. Cependant, la phytoextraction continue commence à être appliquée pour la dépollution des métaux lourds (zinc, cadmium, nickel) et des métalloïdes (arsenic, sélénium) ; les deux stratégies ont fait l'objet d'études en plein champ et les résultats sont encourageants (Jemal *et al.*, 2002).

IV.1 – La phytoextraction continue :

Depuis longtemps déjà, les botanistes systématiciens et les géologues, à la recherche de gisements miniers, ont rapporté l'existence de plantes tolérantes aux métaux lourds qui

Chapitre III : Dépollution des sites et sols pollués

colonisent les secteurs métallifères où les autres espèces disparaissent. Cependant, la majorité de ces plantes accumule dans la racine et seule une infime partie, de l'ordre de 0,0005 à 0,05% de la matière sèche, atteint les tissus aériens des plantes (Brooks *et al.*, 1977). Dans cette étude, les auteurs ont utilisé le terme « hyperaccumulateur » pour décrire des plantes avec des teneurs en nickel supérieures à 1000µg/g de matière sèche au niveau des feuilles (soit 0,1% de leur matière sèche, ce qui correspond à une valeur nettement plus élevée que celle rencontrée chez les plantes non accumulatrices). Aussi, selon Baker et Brooks (1989), les plantes hyperaccumulatrices devraient avoir une valeur seuil d'accumulation de métaux lourds dans leur partie aérienne à 1% pour le zinc (Zn) et le manganèse (Mn), 0,1% pour le plomb (Pb), le cuivre (Cu) et l'aluminium (Al), 0,01% pour le cadmium (Cd) et le sélénium (Se), et 0,001% pour le mercure (Hg) de leur matière sèche.

Les premiers hyperaccumulateurs caractérisés appartenaient aux familles des Brassicacées et des Fabacées. En 1989, Baker *et al.* ont répertorié quelque quatre cent (400) espèces accumulatrices (voir tableau suivant).

Tableau 6 : Estimation du nombre de plantes hyperaccumulatrices (Baker *et al.*, 1989).

Métal	Critère (% MS des feuilles)	Nombre de taxons	Nombre de familles
Cadmium (Cd)	> 0,01	1	1
Cobalt (Co)	> 0,10	28	11
Cuivre (Cu)	> 0,10	37	15
Plomb (Pb)	> 0,10	14	6
Nickel (Ni)	> 0,10	317	37
Zinc (Zn)	> 1,00	11	5
Manganèse (Mn)	> 1,00	9	5

La phytoextraction continue est basée sur les capacités génétiques et physiologiques des plantes spécialisées dans l'absorption, la translocation et la tolérance des métaux. Le mode d'absorption des métaux est optimisé chez les plantes hyperaccumulatrices qui poussent

Chapitre III : Dépollution des sites et sols pollués

sur des sols riches en métaux lourds et qui possèdent des processus physiologiques permettant à ces plantes d'accumuler des métaux durant toute leur période de croissance.

Les inconvénients majeurs de l'utilisation de ces plantes dans la phytoremédiation sont notamment une faible production de biomasse et une croissance beaucoup trop lente pour que cette technique soit viable. S'ajoute à cela un nombre limité de plantes hyperaccumulatrices de métaux fortement impliqués dans la pollution de l'environnement (comme le plomb, le cadmium, l'arsenic ou l'uranium) (Baker et Brook, 1989).

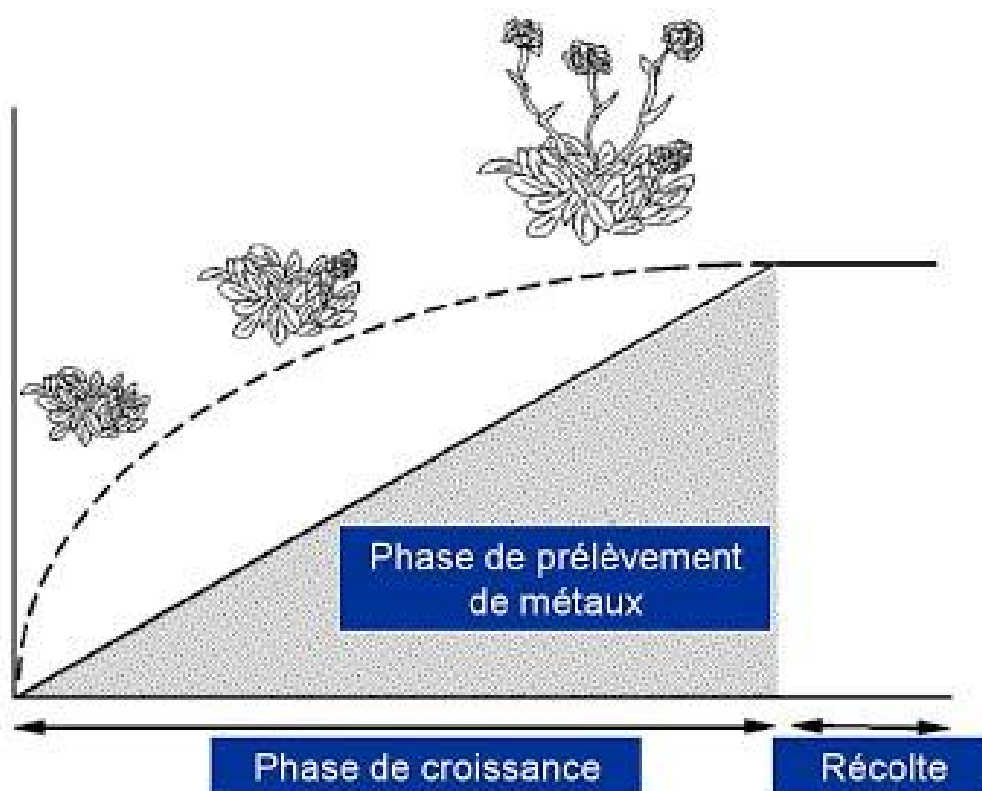


Figure 5 : Schéma représentant une phytoextraction continue (d'après Salt *et al.*, 1998). La ligne pointillée représente la croissance de la plante, la ligne pleine représente le prélèvement de métaux par la plante.

IV.1.1 – Mécanismes biologiques mis en jeu lors de la phytoextraction continue :

La phytoextraction continue implique l'accumulation du métal dans la partie aérienne de la plante durant tout son cycle de développement. Pour y parvenir, les plantes mettent en jeu des mécanismes performants de détoxification du métal accumulé. En effet, Krämet *et al.* (1997) ont montré que la résistance au nickel chez *Thlapsi goensigense* est déterminante pour l'hyperaccumulation du métal. De plus, Rugh *et al.* (1996) ont prouvé que la manipulation génétique d'*Arabidopsis thaliana* lui permet d'exprimer une mercure réductase bactérienne qui la rend résistante et qui fait d'elle une plante capable d'extraire de grandes quantités de mercure à partir des sols pollués, la rendant ainsi apte à la phytoremédiation.

Ainsi, pour développer des plantes hypertolérantes capables de supporter de fortes concentrations d'ions métalliques, il est indispensable de comprendre les mécanismes moléculaires et biochimiques adoptés par les plantes pour résister aux effets toxiques des métaux. Cette hypertolérance repose sur le fait qu'une substance n'est néfaste pour un organisme que si elle s'insère dans son métabolisme. Les hyperaccumulateurs mettent en œuvre une stratégie de séquestration qui rend l'élément biologiquement indisponible, bien que présent dans la plante.

Plusieurs mécanismes ont ainsi été décrits, notamment par Rauser (1995) et Thomsett et Thurman (1988), comme la chélation et la compartimentation. Pour la chélation par exemple, elle consiste en la fixation des ions métalliques par des ligands spécifiques à forte affinité qui réduit leur concentration dans les compartiments intracellulaires et, par voie de conséquence, leur phytotoxicité.

Chez les plantes, il existe divers types de ligands : les acides organiques, les acides aminés et les peptides. Les plantes photosynthétiques sont riches en acides organiques comme le malate, le malonate, l'oxalate, le tartrate, le citrate et l'isocétrate. Ainsi, à titre d'exemple, les acides malique et malonique chélatent l'essentiel du nickel absorbé par les plantes du genre *Alyssum* (Baker *et al.*, 1977). D'autres auteurs ont remarqué que chez *Sebertia acuminata*, le nickel était préférentiellement lié au citrate (Lee *et al.*, 1977). De même, la précipitation du zinc sous forme de phytate et celle du plomb par des carbonates, des sulfates et des phosphates ont été proposées comme un mécanisme de détoxification de ces deux éléments métalliques respectivement par Van Steveninck *et al.* (1990) et Salt *et al.* (1998).

IV.2 – La phytoextraction induite :

Pour le plomb (Pb), le cadmium (Cd), l'arsenic (As) et les radionucléides, on ne connaît pas, de nos jours, de plantes capables d'accumuler naturellement de grandes quantités de ces éléments. Par exemple, la végétation qui croît spontanément sur un milieu contaminé par le plomb ne renferme que 0,01 à 0,06 % de ce polluant dans sa partie aérienne séchée (Huang *et al.*, 1997), ces teneurs étant trop faibles pour une phytoextraction efficace.

La phytoextraction induite, contrairement à la phytoextraction continue, se fait alors en présence de chélateurs et de plantes à forte biomasse et à croissance rapide. Lorsque la plante a atteint un certain niveau de croissance, les chélateurs de métaux sont appliqués au sol. Ceux-ci permettent d'induire l'accumulation de métaux lourds dans la plante par augmentation de la biodisponibilité de l'élément ciblé.

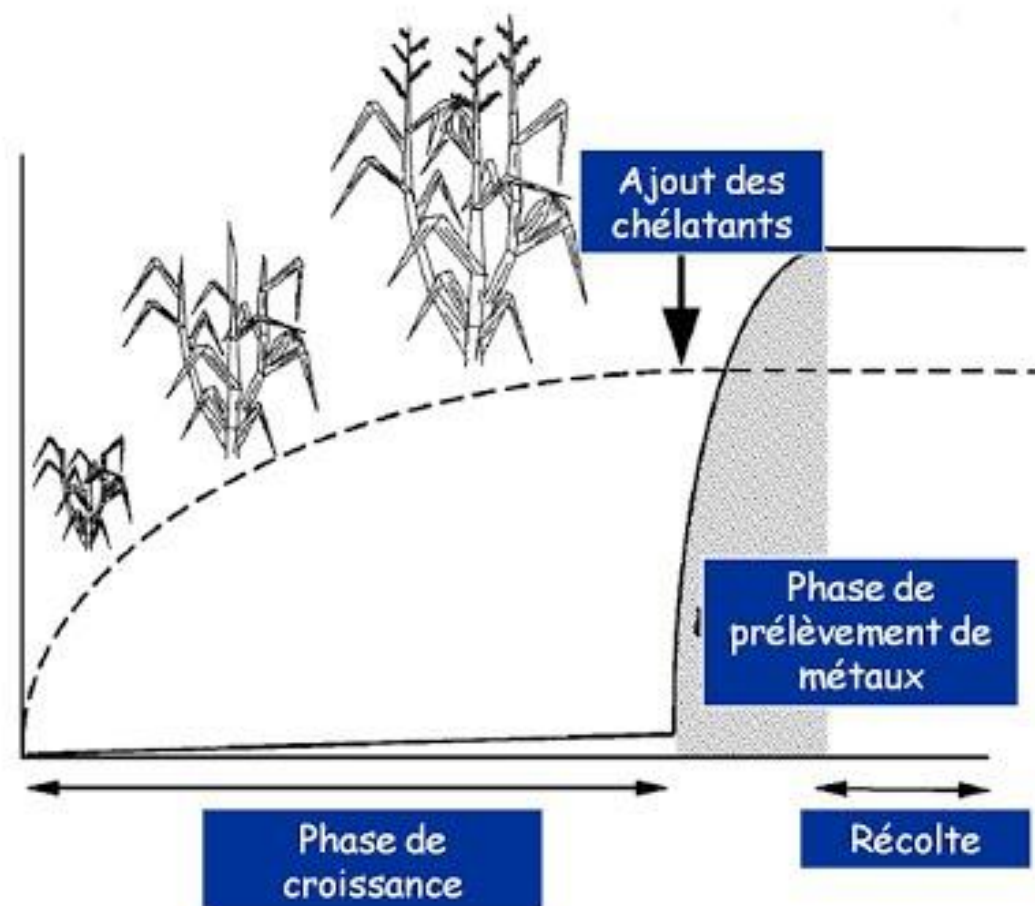


Figure 6 : Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs (d'après Salt *et al.*, 1998). La ligne pointillée représente la croissance de la plante, la ligne pleine représente le prélèvement de métaux par la plante.

IV.2.1 – Développement de la phytoextraction induite :

Jorgensen (1993) a montré par le biais de ses expériences que l'application d'un chélateur synthétique, comme l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (abrégé en EDTA), aux milieux contaminés (sols et composts) stimulait l'absorption et l'accumulation du plomb dans la partie aérienne des plantes.

Huang et Cunningham (1996), Huang *et al.* (1997) et Blaylock *et al.* (1997), en utilisant le même traitement que Jorengsen, ont montré que le taux de plomb dans la partie aérienne des plantes pouvait dépasser 1% de la matière sèche. Cette découverte a été à l'origine de l'amélioration du procédé de phytoextraction du plomb et a ouvert la voie au développement de cette technique à d'autres métaux. En effet, les chélateurs des métaux lourds comme EDTA (acide étylène diamine-tétra-acétique) et EDDS (éthylène diamine-disuccinate) pour le plomb, et EGTA (acide éthylène glyco-tétra-acétique) pour le cadmium, sont aujourd'hui connus pour améliorer la phytoextraction par l'augmentation de la biodisponibilité et de l'accumulation des métaux lourds (Cooper *et al.*, 1999 ; Tandy *et al.*, 2006).

Le concept de phytoextraction induite est alors devenu applicable à d'autres métaux. Des expériences réalisées par Jarvis et Leung en 2002 ont montre que *Pinus radiata* n'est capable d'accumuler naturellement que 60 à 80 mg.kg⁻¹ de plomb ; l'application d'un chélateur synthétique, comme l'EDTA ou l'H-EDTA multiplie par 5 ou 6 son pouvoir d'absorption du plomb (Jarvis et Leung, 2002). Lors de l'ajout du chélateur dans le site contaminé par un le plomb, celui-ci est absorbé et migre vers la partie aérienne où il s'accumule sous la forme du complexe Pb-ETDA (Huang et Cunningham, 1996 ; Salt *et al.*, 1998). Ce phénomène a pu être décrit chez *Zea mays* L. ; l'ajout d'EDTA ou d'EDDS permet une augmentation de l'accuulation de plomb dans la partie racinaire (Luo *et al.*, 2006).

D'autres expériences, réalisées sur des sols contaminés par plusieurs métaux, montrent une accumulation simultanée de plomb, de cadmium, de cuivre et de zinc chez des plants de colza après application d'EDTA (Blaylock *et al.*, 1997).

La stimulation de l'accumulation du métal est directement liée à l'affinité du chélateur pour le métal à extraire, ce qui présente déjà un avantage de cette technique. De plus, le fait que des plantes à forte production de biomasse, comme le colza, le tournesol ou le maïs, puissent être stimulées pour accumuler le plomb dans leurs parties aériennes représente un autre atout pour le développement de la phytoextraction assistée par des chélateurs.

Selon la saison et la fréquence des récoltes, le site contaminé peut être cultivé plusieurs fois pour d'autres phytoextractions. Ainsi, les estimations suggèrent que les plantes peuvent extraire entre 180 et 530 kg de plomb par hectare et par an (Huang *et al.*, 1996 ; Blaylock *et al.*, 1997), et que la dépollution d'un sol qui renferme 2500 mg.kg⁻¹ de plomb est possible sur une décennie.

La phytoextraction induite est basée sur deux principes :

- L'augmentation de la concentration du métal dans l'eau interstitielle (solution du sol) ;
- L'augmentation de l'absorption et du transport du métal considéré dans la partie aérienne de la plante.

L'augmentation de la concentration du métal dans la solution du sol est due à la forte affinité du chélateur utilisé, ce dernier se liant fortement au métal et passant dans l'eau interstitielle.

Après utilisation du chélateur, l'accumulation du plomb dans la partie aérienne est directement corrélée à l'accumulation de l'EDTA (Salt *et al.*, 1998). De plus, selon Huang et Cunningham (1996), la présence d'une teneur élevée en EDTA dans les tissus de la plante pourrait augmenter la concentration du plomb soluble par la formation du complexe Pb-EDTA et favoriser ainsi sa migration vers la partie aérienne où il s'accumule. Cette migration vers la partie aérienne est assurée par le courant de transpiration : au niveau de la feuille, l'eau s'évapore et le complexe métal-chélateur s'accumule.

V – Avantages et limites de la phytoextraction :

V.1 – Avantages :

La technique de phytoextraction présente de nombreux intérêts, notamment d'ordre environnemental et économique. En effet, l'activité biologique et la structure des sols sont maintenues après le traitement. De plus, le coût de cette technique est bien moindre que celui de procédés traditionnels *in situ* et *ex situ*, bien qu'il soit variable selon les contaminants.

D'autre part, les plantes permettent de conserver un paysage agréable et d'installer une communauté de microflore et de microfaune résistante aux métaux 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 ;

en outre, les métaux lourds peuvent aussi être récupérés et réutilisés (Kumar *et al.*, 1995 ; Raskin *et al.*, 1997 ; Blaylock et Huang, 2000 ; Garbisu et Alkorta, 2001).

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.

V.2 – Limites :

Tout comme d'autres techniques de dépollution, la phytoextraction comporte des désavantages. Cette idée a été initialement introduite par Baker *et al.*, (1989), pour qui la majorité des plantes hyperaccumulatrices présente une faible production de biomasse et une vitesse de croissance relativement lente demandant un investissement en temps et/ou en argent assez important avec l'adjonction de chélateurs ou autres substances dites « starter ». De plus, la concentration et le type de métaux lourds influencent la phytotoxicité et, dans certains cas, la croissance des plantes (Shah *et al.*, 2007 ; Salt *et al.*, 1998 ; Singh *et al.* 2003).

La phytoextraction repose essentiellement sur les interactions entre les plantes, le compartiment du sol et la microflore tellurique. Dans ce système plante-sol-microorganismes, les microorganismes ont souvent biodégradé les polluants en amont de l'absorption racinaire. De plus, plantes et microorganismes ont co-évolué pour disposer d'une stratégie à bénéfices mutuels pour gérer la phytotoxicité et donc améliorer la phytoextraction. Les microorganismes rhizosphériques profitent des exsudats racinaires alors que les plantes bénéficient de la capacité de dégradation des polluants en stimulant l'activité microbienne pour réduire le stress de phytotoxicité (Whiting *et al.*, 2001 ; Glick, 2003). Une meilleure connaissance de ces mécanismes, bien que fastidieuse, est une clé essentielle à la réussite de la phytoextraction

Enfin, la phytoextraction induite par l'ajout de chélateurs permet d'augmenter la mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds, ainsi que la capacité d'extraction et de transport du métal dans les plantes (Huang *et al.*, 1997 ; Blaylock *et al.*, 1997). Cependant, les chélateurs présentent des risques pour l'environnement et il manque des données concernant la persistance de ces chélateurs de métaux lourds dans les sols contaminés (Lombi *et al.*, 2001).

Pour pallier ces inconvénients et développer avec succès une phytoextraction en améliorant les rendements, la plupart des études sur ce thème a pour objectif la découverte et

la sélection de plantes hyperaccumulatrices ayant une forte production de biomasse (Wenzel, 2009). La transformation par génie génétique de plantes sensibles mais à forte production de biomasse en plantes hyperaccumulatrices est aussi envisagée.

En revanche, peu d'études prennent en compte le compartiment fonctionnel du sol que constitue la drilosphère, ou zone d'influence des vers de terre sur le sol (Hickman et Reid, 2008 ; Kuffner *et al.*, 2008). Pourtant, en tant qu'ingénieurs écologiques, les vers de terre jouent un rôle important dans leur environnement (Derouard *et al.*, 1996 ; Bohlen, 2002 ; Dechaine *et al.*, 2005 ; Tapie-Coral *et al.*, 2006).

CHAPITRE IV

Rappelons que l'objectif de notre travail est de tester une technique biologique de dépollution des sols. Précisément, il s'agit de quantifier le taux d'absorption du plomb par le colza et d'estimer l'effet d'un chélateur (l'EDTA) vis-à-vis de cette absorption

Partant d'une hypothèse, et pour répondre à la problématique posée en amont de cette étude, nous avons opté pour une méthode d'approche expérimentale. Ce type d'approche, bien que délicat à mettre en œuvre, est le plus à même d'élucider le problème posé et de répondre au questionnement initial du sujet. En effet, les méthodes expérimentales scientifiques, promues par Ibn Al Haythem (Baarmann, 1882) puis définies par Chevreul et développées par Bernard (Thiele, 2005), consistent à tester la validité d'une hypothèse en reproduisant un phénomène.

I – Matériels :

I.1 – Matériels physiques et chimiques :

I.1.1 – La serre :

Pour la réalisation de ce travail, et afin de contrôler au mieux les facteurs extérieurs à l'expérience pouvant influencer notre expérimentation, nous avons eu besoin d'avoir accès à une serre. La serre est notamment été utile pour :

- Contrôler la température de culture en lui évitant d'être trop basse (19°C étant la température minimale enregistrée un peu après le départ de la culture en janvier, et 32°C la plus haute, en avril) ;
- Maîtriser l'hygrométrie et l'humidité du sol afin de contrôler l'arrosage et de limiter la déperdition de sol dans les pots et le lessivage du polluant, en évitant notamment des apports en eau trop importants suite à de fortes pluies ;
- Limiter l'accès des ravageurs, en isolant partiellement la culture du milieu extérieur.

C'est donc à l'I.T.M.A.S., l'Institut Technique des Moyens Agricoles Supérieur sis à Boukhalfa, que notre travail expérimental s'est déroulé, à l'intérieur d'une serre choisie par nos soins pour son orientation Est-Ouest et son ensoleillement idéal (absence d'obstacles pouvant réduire l'homogénéité du flux de soleil reçu quotidiennement). Sa charpente métallique et son voile en plastique transparent robuste nous ont assuré des conditions de culture optimales.

Quelques mètres carrés de bâche épaisse nous ont été fournis pour servir de barrière physique entre notre culture en pot et le sol, empêchant la percolation du métal.

I.1.2 – Les pots :

La culture du colza s'est déroulée dans des pots contenant une terre contaminée.

Les pots utilisés, en plastique, sont de dimensions :

- Diamètre basal : 22 cm,
- Diamètre à l'ouverture : 25 cm,
- Profondeur : 28 cm,
- Capacité : 15 litres, ou 6 kilogrammes de terre.

I.1.3 – Polluant métallique :

Le polluant métallique choisi pour réaliser cette expérimentation est le plomb (Pb) sous forme élémentaire, de marque BIOCHEM[®], dont la pureté était de 99.97%. Il a été choisi en raison de sa relative abondance ainsi que de sa fréquence dans les milieux naturels. En sus des retombées atmosphériques principalement dues aux secteurs de l'industrie et du transport notamment urbain, les nombreuses décharges sauvages disséminées à travers tout le territoire national sont une source majeure de préoccupation quant à la pollution métallique des sols, en particulier la pollution plombique majoritairement causée par la mise au rebut d'un très grand nombre de batteries automobiles en l'absence d'un circuit de récupération adapté.

I.1.4 – L'agent chélateur :

Le principe de la phytoremédiation induite (ou phytoremédiation assistée) est, comme précisé au chapitre 3, de pousser la plante à absorber une plus grande quantité de métal par le biais de l'utilisation d'un agent chélateur.

Le chélateur utilisé ici est l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique, abrégé en EDTA. Son principe repose sur l'acidification du sol, permettant ainsi la désolidarisation des ions métalliques fixés aux argiles et à la matière organique.

I.2 – Matériel biologique :

Le choix du matériel végétal pour la réalisation de cette expérimentation s'est porté sur le colza (*Brassica napus*). Plusieurs facteurs ont été pris en compte pour le choix de ce genre botanique (*Brassica*) et de cette espèce en particulier (*B. napus*), les principaux étant : le grand nombre de graines produites par chaque plant et leur haut taux de germination, la

capacité avérée du genre à accumuler les métaux lourds ainsi que la présence de l'espèce dans la littérature traitant de phytoremédiation (particulièrement de phytoextraction), et la biomasse relativement élevée du colza.

Les graines de colza utilisées ont été fournies par notre encadreur. Il s'agit de la variété « Fantasio » de l'espèce *Brassica napus*, dont le test de germination a été évalué par nos soins.

II – Méthode d'approche :

La méthode d'approche expérimentale repose sur un principe fondamental : la modification d'un paramètre ou d'un ensemble de paramètres à l'aide d'un dispositif expérimental conçu pour permettre le contrôle de ces paramètres dans le but de mesurer leurs effets.

Le protocole expérimental regroupe la description des conditions et du déroulement d'une expérience. Tous les objets, tous les traitements et toutes les unités expérimentales, ainsi que toutes les répétitions, doivent figurer le plus fidèlement possible dans la définition d'un protocole expérimental.

II.1 – L'expérimentation :

Le but de cette expérimentation étant de tester le pouvoir dépolluant du colza dans un sol contaminé par le plomb et possédant différents pH afin d'étudier l'effet de l'acidification du sol sur la dépollution, il a d'abord fallu polluer le sol, semer des graines de colza, appliquer de l'acide diaminotétraacétique (EDTA) au sol lorsque la croissance des plants était optimale, puis récolter ces plants pour en analyser le système racinaire et la biomasse aérienne. Toutes ces étapes sont développées ci-après.

II.1.1 – Le protocole expérimental :

Comme dit précédemment, le protocole expérimental consiste en la description des étapes nécessaires pour mener à bien l'expérimentation.

II.1.1.1 – La préparation du sol :

La première étape réalisée a été la préparation du sol à mettre dans nos unités expérimentales, les pots.

Le sol utilisé pour réaliser cette expérimentation a été prélevée au niveau de l'ITMAS Boukhalfa (Institut Technique des Moyens Agricoles Supérieur, sis à Boukhalfa, Tizi-Ouzou, face la faculté de droit de l'UMMTO) sur une parcelle de terre qui a été labourée quatre (4) à six (6) mois avant, et qui n'a reçu aucun traitement chimique ou phytosanitaire dans les vingt-quatre (24) mois précédant le prélèvement.

Dix sacs de cinquante kilogrammes ont été remplis aux deux tiers le 09 janvier 2014, puis leur contenu a été déversé dans une serre afin de procéder à son séchage. Pour sécher uniformément, la terre a été étalée sur une bâche.

Une fois sèche, la terre a été mélangée, les agrégats concassés et un échantillon a été prélevé pour analyse pédologique dont les résultats seront présentés dans le chapitre suivant.

II.1.1.2 – La pollution du sol :

La contamination du sol par le plomb a été effectuée le 25 janvier 2014, lorsque la terre prélevée a séché. Il a d'abord fallu déterminer les quantités de plomb nécessaires pour réaliser les quatre doses retenues : la dose P_1 concernait une pollution de 400 ppm (parties par million, soit mg.kg^{-1}), la dose P_2 une pollution de 800 ppm, la dose P_3 une pollution de 1200 ppm et la dose P_4 une pollution de 1600 ppm. Nous avons donc pour :

- P_1 : 400 milligrammes de métal par kilogramme de sol, soit un poids de 2,4 g,
- P_2 : 800 milligrammes de métal par kilogramme de sol, soit un poids de 4,8 g,
- P_3 : 1200 milligrammes de métal par kilogramme de sol, soit un poids de 7,2 g,
- P_4 : 1600 milligrammes de métal par kilogramme de sol, soit un poids de 9,6 g.

La contamination du sol s'est déroulée comme suit :

- Peser 6 kg de terre (après tare du pot contenant une couche d'un centimètre de gravier pour le drainage) à l'aide d'une balance électronique,

- Déposer et étaler la terre sur une bâche,
- Ajouter la dose de plomb adéquate (P_1 , P_2 , P_3 ou P_4 , selon l'étiquette correspondant au pot à remplir) en la répartissant uniformément à la surface du sol à contaminer,
- Remuer de façon à homogénéiser la répartition de la dose de plomb appliquée,
- Transvaser la terre contaminée dans le pot dont l'étiquette correspond à la dose de métal appliquée.

Ainsi, soixante-quatre des soixante-huit pots de l'expérimentation ont été remplis suivant ce protocole. Les quatre autres pots étant des témoins, ils n'ont pas reçu de plomb ; ils ont donc été les premiers à contenir chacun leur quota de terre saine pour éviter un transfert, même infime, des résidus de plomb mis en contact avec la bâche.

II.1.1.3 – Détermination des doses d'acide à appliquer au sol (EDTA) :

Pour réaliser cette étude, nous avons décidé d'arrêter quatre niveaux de pH différents : un pH neutre (celui du sol à l'état originel) noté E_1 et mesuré à 7,54, un pH de 6,16 noté E_2 , un troisième pH (E_3) de 5, et un dernier pH de 4,63 noté E_4 . Afin d'abaisser le pH du sol, nous avons donc eu recours à l'adjonction des différentes doses d'EDTA suivantes :

- Pour E_1 (pH = 7,54) : 0 grammes d'EDTA,
- Pour E_2 (pH = 6,16) : 19,3 grammes d'EDTA ont été ajoutés au sol,
- Pour E_3 (pH = 5) : 68,6 grammes d'EDTA ont été additionnés au sol,
- Pour E_4 (pH = 4,63) : 107,1 grammes d'EDTA ont été ajoutés.

La détermination de ces quantités a été faite au laboratoire où nous avons utilisé une prise d'essai de 12 grammes de terre dont nous avons calculé le pH à trois reprises dans les conditions normales, avant d'ajouter par tâtonnement, de l'acide éthylène-diaminotétracétique jusqu'à obtention des niveaux de pH désirés. Une règle de trois a ensuite été faite afin de déterminer la quantité nécessaire d'EDTA pour acidifier les six kilogrammes de terre contenus dans chaque unité expérimentale.

II.2 – Le dispositif expérimental :

Pour réaliser cette expérience, nous avons opté pour un dispositif expérimental en blocs aléatoires complets, ou dispositif en BAC. Selon Dagnieliec(1981), ce type de dispositif permet une plus grande randomisation de la disposition des échantillons et élimine de ce fait, ou réduit grandement, l'impact éventuel de facteurs pouvant biaiser l'expérimentation.

La distribution aléatoire des dix-sept (17) unités expérimentales dans chaque bloc expérimental, et de leurs quatre (04) répétitions, a été faite par tirage au sort : dix-sept (17) jetons, associés à chacun des pots d'un même bloc, ont été disposés dans une urne opaque puis tirés au hasard (en mélangeant les jetons restants après chaque tirage). Les pots désignés par ce tirage au sort ont été disposés dans l'ordre dans lequel ils ont été tirés ; chaque tirage a été codifié par un numéro de rang (le premier pot tiré au sort prenant place au rang numéro 1, le second au rang numéro 2 et ainsi de suite). Ce tirage a été fait quatre (04) fois, une (01) fois par bloc (Figure 7 et Tableau 7).

Le dispositif expérimental obtenu est représenté Figure 7 et sur le tableau qui la suit (Tableau 7).



Figure 7 : Dispositif expérimental tel que réalisé sous la serre (photographie originelle).

Chapitre IV : Matériels et méthodes

Tableau 7 : Schéma du dispositif expérimental réalisé sous serre.

RANG	BLOC 1	BLOC 2	BLOC 3	BLOC 4
N° 01	P ₂ E ₁	P ₄ E ₁	P ₃ E ₃	P ₁ E ₃
N° 02	P ₂ E ₂	P ₁ E ₂	P ₁ E ₂	P ₃ E ₁
N° 03	P ₂ E ₄	P ₃ E ₂	P ₄ E ₄	P ₃ E ₂
N° 04	T	P ₁ E ₄	P ₁ E ₄	P ₄ E ₃
N° 05	P ₃ E ₃	P ₂ E ₂	P ₂ E ₂	P ₁ E ₄
N° 06	P ₁ E ₃	P ₂ E ₄	T	P ₄ E ₁
N° 07	P ₄ E ₂	P ₁ E ₁	P ₂ E ₄	P ₄ E ₄
N° 08	P ₁ E ₁	P ₄ E ₄	P ₃ E ₁	P ₄ E ₂
N° 09	P ₂ E ₃	P ₂ E ₁	P ₄ E ₃	P ₂ E ₁
N° 10	P ₄ E ₁	P ₃ E ₄	P ₄ E ₁	P ₁ E ₂
N° 11	P ₄ E ₃	P ₂ E ₃	P ₃ E ₂	P ₃ E ₃
N° 12	P ₁ E ₂	T	P ₂ E ₁	T
N° 13	P ₄ E ₄	P ₃ E ₁	P ₂ E ₃	P ₂ E ₄
N° 14	P ₃ E ₄	P ₄ E ₂	P ₁ E ₁	P ₂ E ₃
N° 15	P ₃ E ₂	P ₄ E ₃	P ₄ E ₂	P ₂ E ₂
N° 16	P ₃ E ₁	P ₁ E ₃	P ₁ E ₃	P ₁ E ₁
N° 17	P ₁ E ₄	P ₃ E ₃	P ₃ E ₄	P ₃ E ₄

II.3 – L'analyse pédologique :

L'analyse du sol est une partie importante de toute étude traitant de dépollution des sols. En effet, comme vu au Chapitre I, chaque sol possède des caractéristiques qui lui sont propres. Ces caractéristiques vont sensiblement modifier l'importance et l'intensité de la pollution et vont également influencer la décision quant à la technique de dépollution à utiliser.

Pour les besoins de cette étude, il nous a fallu déterminer les caractéristiques essentielles du sol à traiter. Ces analyses ont été réalisées dans le laboratoire « Physique et Chimie des Sols » du département « Sol et Environnement » de l'Institut National de Recherche en Agronomie (INRA) d'Alger ; les protocoles opératoires ainsi que le matériel et les réactifs nécessaires ont été fournis par le responsable du laboratoire. Toutes les manipulations réalisées à l'INRA ont ensuite été confirmées dans un laboratoire privé indépendant sis à Boumerdes (GéoMica), dont le responsable et propriétaire a gracieusement mis à notre disposition toutes les ressources, tant humaines que matérielles, dont son laboratoire dispose ; son équipe et lui ont de plus été disponibles pour nous fournir toutes les explications théoriques que nous avons demandé.

Les résultats de ces analyses sont présentés au Chapitre V.

II.4 – La minéralisation des échantillons :

Le principe de la minéralisation d'échantillons biologiques est fondé sur la destruction de la matière organique par deux attaques acides, l'une à froid en utilisant de l'acide nitrique concentré à 97 % (HNO_3), et l'autre à chaud en utilisant de l'acide perchlorique (HClO_4).

II.4.1 – Préparation du matériel à analyser :

Tout de suite après la récolte de nos plants de colza, nous avons procédé à la séparation des organes de la plante. Pour cela, nous avons coupé les racines au niveau du collet à l'aide d'un couteau à lame dentée que nous avons soigneusement nettoyé à l'eau savonneuse durant 15 minutes avant la première utilisation, et après avoir séparé les racines des parties aériennes de chacun des plants.

La biomasse aérienne a été mise à sécher à l'air libre et à l'ombre sur des feuilles de papier portant des étiquettes mentionnant les références de chaque plant (dose P_x de plomb, dose E_Y d'EDTA et numéro du bloc B_n).

Les racines ont quant à elles été lavées deux fois à l'eau savonneuse durant 15 minutes, et ce afin d'éliminer toute trace de particules de terre et le plomb qui y est fixé. Après le lavage, les racines ont été découpées en morceaux grossier pour accélérer le séchage et faciliter l'opération de broyage.

Après environ une semaine à l'air libre, les différents organes ont été mis à sécher dans une étuve. Les parties aériennes ont séché durant quatre heures à une température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Les racines ont également séjourné quatre heures dans l'étuve préalablement chauffée à $130^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

Après séchage complet, chaque échantillon a été broyé à l'aide d'un moulin à café ; la poudre obtenue a été transvasée dans un récipient opaque (boîte de pellicule photographique avec couvercle hermétique) portant l'étiquette adéquate.

II.4.2 – Mode opératoire de la minéralisation acide :

Pour réaliser la minéralisation des différents organes de la plante, nous avons opté pour la minéralisation telle que décrite par Miller (1998).

Cette technique consiste en une digestion chimique par voie humide après nettoyage, séchage et broyage des parties du végétal à minéraliser. Cette méthode, souvent recommandée, permet une meilleure extraction des minéraux à partir de la matière végétale (Miller, 1998 ; Da Silva, 1998).

Pour réaliser la minéralisation de nos échantillons, nous avons commencé par faire réagir une prise d'essai de 0,5 g de matière végétale séchée (MVS) et broyée avec 6 ml d'acide nitrique concentré à 97 % (HNO_3) dans un matras pendant une nuit (environ huit heures).

Le mélange a ensuite été chauffé sur un minéralisateur, sous une hotte pour évacuer les gaz, à une température de 150°C durant soixante minutes.

Sont ensuite ajoutés 2 ml d'acide perchlorique (HClO_4) à 70 % avant de poursuivre l'attaque sur le minéralisateur à une température de 250 °C jusqu'à l'évaporation complète de l'acide, soit environ quarante minutes. Il ne reste plus alors dans le matras qu'un dépôt blanc, le minéralisat, constitué de matière minérale.

Chaque matras est alors soigneusement rincé avec 10 ml d'eau distillée qui sont ensuite filtrés avant d'être transvasés dans des fioles jaugées de 25 cl. De l'eau distillée est ajoutée jusqu'au trait de jauge.

La solution ainsi obtenue est enfin transférée dans des tubes à essai en verre scellés hermétiquement. Chaque tube à essai est étiqueté ; les étiquettes comportent des indications relatives à l'organe minéralisé, aux doses de plomb et d'EDTA reçues par le sol durant l'expérimentation, ainsi qu'au bloc d'où provient l'organe végétal minéralisé.

Les cent-trente-six échantillons sont alors envoyés pour l'analyse chimique par spectrométrie à absorption atomique.

II.5 – L'analyse chimique des échantillons minéralisés :

Le dosage du métal contenu dans chaque tube à essai a été réalisé dans deux laboratoires différents possédant le même matériel.

L'analyse des solutions issues de la minéralisation de la biomasse aérienne a été réalisée à l'Université M'hamed Bougara de Boumerdes (UMBB) ; quant à l'analyse des échantillons issus de la minéralisation de la biomasse racinaire, elle a eu lieu dans un laboratoire de l'Université des Sciences et Techniques Houari Boumediène d'Alger (USTHB).

Les dosages des échantillons provenant de la minéralisation des deux organes (aérien et racinaire) ont été faits par spectrométrie d'absorption atomique (AAS pour *Atomic Absorption Spectroscopy*, ou SAA).

Les résultats de ces dosages sont présentés, analysés et discutés au Chapitre V.

II.5.1 – Spectrométrie d’Absorption Atomique (S.A.A.) :

La spectrométrie par absorption permet de doser une soixantaine d’éléments chimiques à l’état de traces (quelques mg/litre), l’analyse se base sur l’absorption de photons par des atomes à l’état fondamental. A cet effet, il est en général fait usage de solutions.

Il existe deux types de spectrométries d’absorption atomique : l’une est dite « spectrométrie d’absorption atomique électrothermique » (SAAE), quant à l’autre, celle qui nous intéresse car c’est à elle que nous avons fait appel pour nos dosages, elle est dite « spectrométrie d’absorption atomique en flamme » (SAAF).

II.5.1.1 – Principe de fonctionnement général :

Bien que différentes sur certains points (notamment l’appareillage), ces deux variantes reposent sur le même principe de fonctionnement. Ce sont toutes deux des méthodes qui permettent la détection et la quantification de la grande majorité des éléments de la classification périodique en mettant en jeu des atomes libres à l’état de vapeur (qui ne font donc plus partie d’une molécule). De manière générale, l’appareillage va donc d’abord produire une vapeur atomique à partir de l’échantillon à doser, puis induire la destruction de la molécule à analyser. Le principe général est basé sur l’existence des niveaux électroniques et peut être décomposé en deux étapes :

- L’excitation des atomes, dont la source d’excitation est la lumière à une longueur d’onde précise et spécifique à l’élément à doser. Lorsqu’un atome à l’état fondamental va recevoir un apport d’énergie correspondant à ses transitions électroniques, l’électron périphérique peut passer sur une orbitale plus externe.
- Le retour à l’état fondamental s’accompagne d’une libération d’énergie égale à la différence entre deux niveaux électroniques ; elle se fait de manière radiative : il y a émission d’un rayonnement de longueur d’onde caractéristique.

II.5.1.2 – La Spectrométrie d’Absorption Atomique en Flamme (SAAF) :

II.5.1.2.1 – Principe de fonctionnement de la SAAF :

Un échantillon liquide est introduit sous forme d’aérosol dans une flamme par le biais d’un nébuliseur (l’échantillon est nébulisé). Lors de la traversée de la flamme, les atomes à l’état fondamental vont absorber le rayonnement spécifique émis par une source lumineuse. La mesure de cette absorption (rapport des intensités incidentes et transmises), est proportionnelle à la quantité d’atomes de l’élément à doser et permet donc de déterminer la concentration de l’élément dans la solution par rapport à une gamme de calibration. L’intensité de l’absorption dépend directement du nombre de particules absorbant la lumière selon la loi de Beer-Lambert ($A = \epsilon \cdot c \cdot l$), avec : A = absorbance (sans unité)

ϵ = absorptivité molaire ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

c = concentration molaire de la solution (mol/L)

l = longueur du trajet optique (cm)

II.5.1.2.2 – Appareillage de la SAAF :

L’appareillage est constitué de plusieurs parties, dont les plus importantes sont :

- Système d’introduction de l’échantillon : il s’agit d’un nébuliseur pneumatique qui aspire l’échantillon et le fragmente en fines gouttelettes. L’aérosol formé arrive alors dans une chambre de nébulisation qui élimine les gouttelettes les plus grosses
- Atomiseur : constitué par un brûleur à fente alimenté par un mélange air/acétylène, il permet la production d’une flamme laminaire. En modifiant les débits de gaz, il est possible d’obtenir une flamme réductrice ou oxydante selon les besoins d’analyses.
- Une source de rayonnement spécifique de l’élément à doser. Il peut s’agir :
 - o d’une lampe à cathode creuse remplie d’argon sous faible pression et

comportant deux électrodes ; la cathode est ici constituée de l'élément à doser ou d'un alliage de plusieurs éléments. La mise sous tension de la lampe provoque l'ionisation des atomes d'argon qui vont venir percuter la cathode, provoquant ainsi l'excitation des atomes de celle-ci ; ces derniers vont ensuite émettre un rayonnement intense dirigé vers la flamme qu'il traverse longitudinalement. L'excitation des atomes de l'échantillon a alors lieu.

- o d'une lampe EDL, qui est une ampoule en quartz contenant un sel métallique soumise à un champ électromagnétique induit par une bobine d'induction qui permet de diminuer la largeur des raies et augmente l'intensité. Elle est surtout utilisée pour les métalloïdes tels que l'arsenic (As) ou le sélénium (Se).
- Un système optique qui permet de focaliser le faisceau et de sélectionner les longueurs d'onde grâce à un réseau d'optiques. Un photomultiplicateur permet de transformer l'énergie lumineuse en courant électrique.

II.6 – Conversion de l'unité obtenue après dosage du plomb par A.A.S., et calcul des rapports de transfert et de translocation :

II.6.1 – Conversion de l'unité obtenue après dosage, du mg/L au mg/kg :

Comme dit précédemment, le principe du dosage par spectrométrie d'absorption atomique repose, en général, sur des solutions : le résultat obtenu est donc exprimé en mg.L^{-1} ou en $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Or, pour pouvoir calculer des rapports et avoir un résultat sans unité possible à convertir en pourcentage (comme cela est systématiquement le cas dans tous les ouvrages consultés, qu'il s'agisse de publications scientifiques, de revues et journaux scientifiques internationaux ou de recueils spécialisés), il a d'abord fallu convertir nos résultats de dosage pour nous aligner à la norme mondiale avant de pouvoir réaliser une quelconque opération mathématique.

Pour ce faire, nous avons eu besoin d'avoir recours à une formule mathématique que nous devons être capables de justifier pour que nos résultats soient scientifiquement valides.

Parmi toutes les ressources bibliographiques que nous avons mobilisées pour réaliser ce travail, seul Promeprat (2001) a fait mention d'une telle formule de conversion qui est :

$$C = \frac{c \cdot V}{M}$$

- où
- c = concentration de notre échantillon obtenue après passage à la S.A.A.F., exprimée en mg/L ;
 - V = volume de minéralisat, exprimé en L ;
 - M = poids sec du végétal utilisé pour la minéralisation, exprimé en kg.

II.6.2 – Calcul du rapport de transfert :

Bien que le facteur de transfert du métal depuis le sol vers la plante soit assez largement utilisé dans les études portant sur l'impact de la contamination métallique d'un sol sur les plantes, il existe de nombreuses ambiguïtés quant à sa définition et, surtout, son calcul.

Tout d'abord, certains auteurs tels que Delmail (2014) font la distinction entre Facteur de Bioconcentration (ou FBC) et facteur de transfert du sol à la plante (qu'ils nomment Coefficient d'Extraction ou CE), alors que d'autres auteurs prennent ces deux notions pour une seule (Chumbley et Unwin, 2004 ; Cui *et al.*, 2004 ; Zheng *et al.*, 2007). La distinction entre CE et FBC est en effet récente, postérieure à 2007 selon Cecchi (2008).

De plus, même s'il est la plupart du temps calculé à partir de la teneur totale en métal dans le sol, certains auteurs suggèrent que l'utilisation de la fraction biodisponible du métal est plus judicieuse (Brun *et al.*, 1998 ; MacLaughlin *et al.*, 2000 ; Pichtel *et al.* 2000) ; elle permettrait, selon eux, de prédire au mieux le transfert potentiel du plomb vers les plantes. Cette suggestion est, selon Cecchi (2008), plus adaptée aux besoins des études portant sur les risques sanitaires (santé humaine liée à la consommation de végétaux) que sur les risques environnementaux de propagation des toxiques dans les chaînes alimentaires.

Une autre ambiguïté, et non des moindres, réside dans la manière même de calculer ce

facteur de transfert. En effet, des auteurs tels que Fytianos *et al.* (2001) calculent ce rapport en considérant la concentration moyenne du polluant dans la plante entière et séchée (matière sèche végétale, souvent notée M.S ou M.V.S.) alors que d'autres auteurs tels que Zheng *et al.* (2007) le calculent en séparant les organes végétaux et en prenant parfois en considération la teneur dans la matière fraîche (M.F.), d'autres fois dans la matière sèche.

Nous avons donc calculé le rapport de transfert en prenant en compte les teneurs totales de plomb dans le sol pour chacune des doses de métal ajoutées à notre substrat. Nous avons également d'une part, à l'instar de Zheng et ses collaborateurs (2007), fait ces calculs en séparant les organes végétaux puis, d'autre part, pris en considération les teneurs moyennes de métal absorbées par la plante entière, comme l'ont fait Fytianos *et al.* en 2001 ou encore Yanqun *et al.* en 2004.

Les deux formules utilisées, telles que définies par Chumbley et Unwin (2004) pour les organes végétaux séparés et par Delmail (2014) pour la plante entière, sont respectivement :

$$C.E.racines = \frac{[Pb]racines}{[Pb]sol}$$

$$C.E.plante = \frac{[Pb]plante}{[Pb]sol}$$

II.6.3 – Calcul du rapport de translocation :

Il est largement admis que pour la plupart des espèces végétales, la majorité du métal absorbé par les plantes réside dans les racines, et seule une faible proportion est transloquée vers les parties aériennes (Baker, 1981 ; Seregin et Ivanov, 2001). Ce transport limité des racines vers les feuilles est souvent expliqué par la présence d'une barrière formée par l'endoderme des racines : les bandes de Caspary (aussi dénommées cadre de Caspari) peuvent

en effet être un facteur majeur limitant le franchissement de l'endoderme jusqu'au cylindre central (Seregin *et al.*, 2004 ; Sharma et Dubbey, 2005).

Pour illustrer ce propos, différents auteurs (Mattina *et al.*, 2003 ; Tanhan *et al.*, 2007) ont défini un facteur de translocation (F.T.) qui est calculé comme suit :

$$F.T. = \frac{[Pb]_{parties\ aériennes}}{[Pb]_{racines}}$$

CHAPITRE V

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

I – Résultats de l'analyse pédologique :

L'analyse pédologique a concerné les caractéristiques les plus importantes d'un sol, à savoir sa granulométrie, son potentiel hydrogène, ses teneurs en matière organique, en calcaire total, en azote total, en carbone total et le rapport de ces deux dernières teneurs, son humidité résiduelle, sa conductivité électrique et sa capacité d'échange cationique, ainsi que ses teneurs en chlore (Cl^-) et en sulfate (anion SO_4^{2-}).

L'analyse a été effectuée sur un échantillon de l'horizon de surface prélevé sur une profondeur de 25 centimètres.

La première caractéristique analysée, la granulométrie, est présentée sur la Figure 8 tandis que toutes les autres sont synthétisées dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Résultats de l'analyse des caractéristiques chimiques du sol.

Caractéristique étudiée	Résultat des essais
Profondeur (m)	0,25
Teneur en SO_4^{2-} (%)	0,031
pH	7,535
Teneur en Cl^- (%)	0,035
Teneur en M. O. (%)	7,374
Humidité résiduelle (%)	1,77
Teneur en CaCO_3 (%)	0,779
Teneur en azote (N) total (%)	0,067
Teneur en carbone (C) total (%)	4,277
Rapport C/N	68,836
Conductivité électrique (ds/cm)	1,7
Capacité d'Echange Cationique CEC (meq/100g)	13,1

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

La Figure 8 représente les résultats de l'analyse granulométrique selon la norme NF P 94-056 (méthode par tamisage après lavage) et selon la norme NF P 94-057 (méthode par sédimentation).

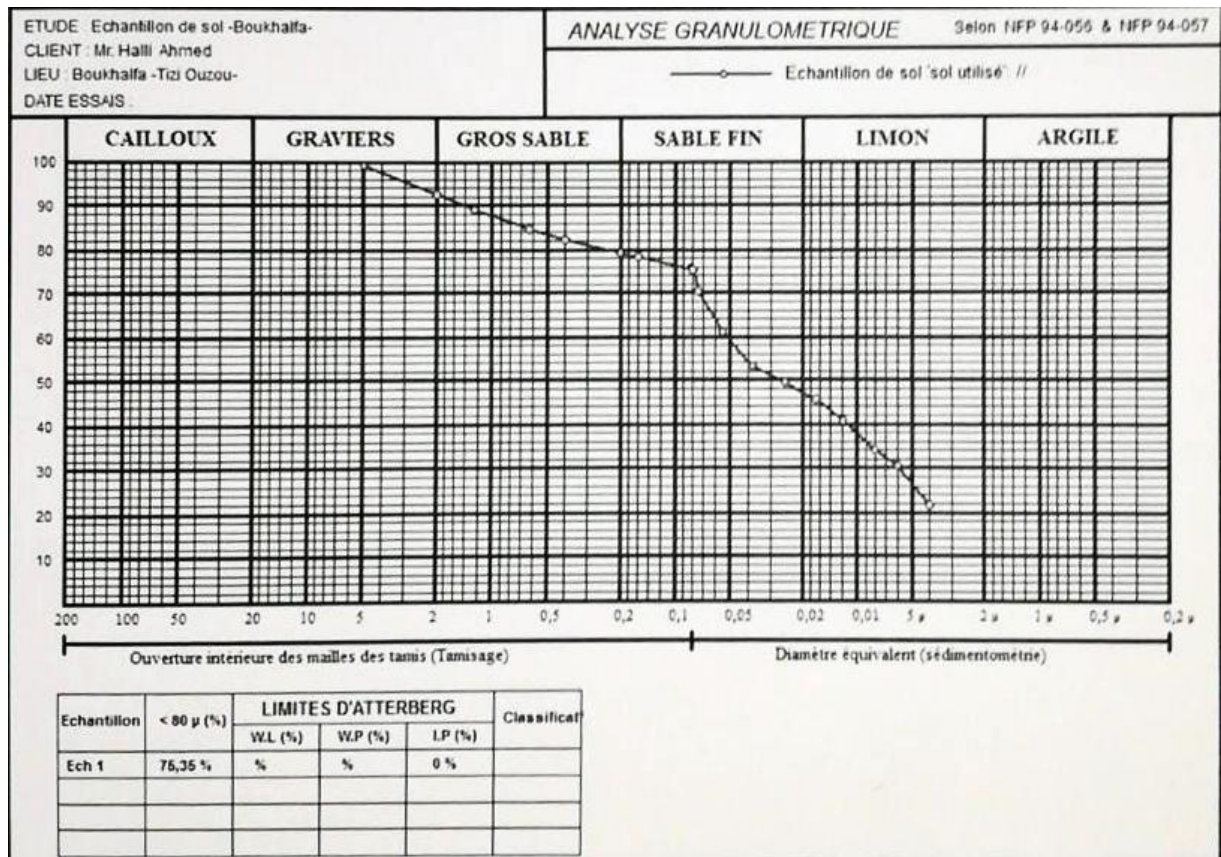


Figure 8 : Résultats de l'analyse granulométrique par tamisage et sédimentométrie.

II – Interprétation des résultats du dosage en S.A.A. :

II.1 – Impact des doses de plomb sur l'absorption racinaire :

Pour mieux comprendre l'effet des différentes doses de plomb sur la tolérance et la capacité d'extraction de cet élément par le système racinaire du colza, une analyse de ce dernier a été effectuée. Les résultats sont regroupés dans les Tableaux 9, 10, 11 et 12, et représentés respectivement dans les Figures 9, 10, 11 et 12.

II.1.1 – Première dose d'EDTA (pour un pH de 7,54) :

Le Tableau 9 reprend les résultats de l'analyse chimique des racines du colza ayant poussé sur un sol à pH = 7,54

Tableau 9 : Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 7,54

Première dose d'EDTA (pH = 7.54)				
Blocs [Pb] en ppm	B1	B2	B3	B4
Témoin (P₀)	1.309	0.712	2.332	1.289
400 (P₁)	1.855	1.281	2.857	1.998
800 (P₂)	1.419	2.05	0.732	1.4
1200 (P₃)	6.011	8.05	5.943	4.041
1600 (P₄)	3.781	3.402	5.576	2.366

La Figure 9 regroupe ces mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

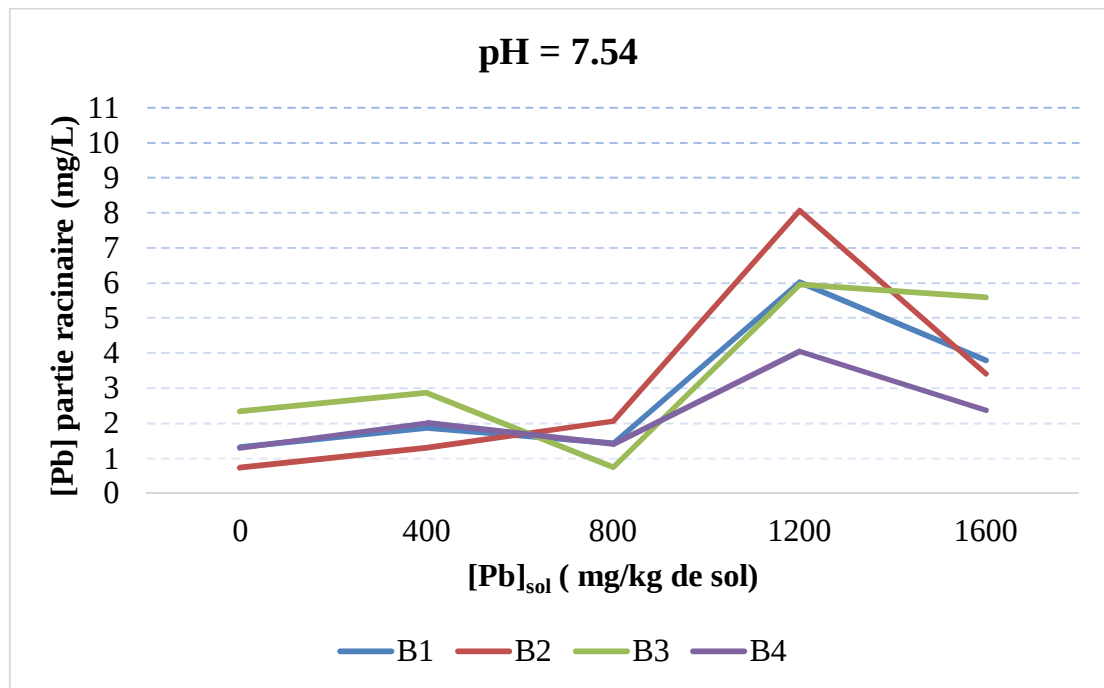


Figure 9 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 7,54.

La Figure 9 nous montre l'absorption du plomb par le système racinaire du colza en fonction de la concentration du plomb dans le sol, à pH 7,54.

Sur ce graphe, l'allure des quatre courbes représentant les quatre répétitions est similaire. Nous distinguons quatre stades :

- Un premier stade, allant de 0 à 400 ppm de plomb dans le sol, durant laquelle les plantes semblent absorber une petite quantité de plomb,
- Un deuxième stade, de 400 à 800 ppm, où l'absorption du plomb est légèrement réduite (hormis pour le bloc 2 où l'absorption continue à augmenter),
- Un troisième stade, allant de 800 à 1200 ppm, durant laquelle l'absorption du plomb augmente grandement,
- Un quatrième et dernier stade, de 1200 à 1600 ppm, où l'on observe une légère baisse de l'absorption, qui reste néanmoins plus élevée qu'à 400 et 800 ppm.

II.1.2 – Deuxième dose d'EDTA (pour un pH de 6,16) :

Le Tableau 10 regroupe les résultats de l'analyse chimique du système racinaire du colza ayant poussé sur un sol à pH = 6,16.

Tableau 10 : Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 6,16

Deuxième dose d'EDTA (pH = 6.16)				
Blocs [Pb] en ppm	B1	B2	B3	B4
Témoin (P₀)	1.309	0.712	2.332	1.289
400 (P₁)	2.45	1.641	2.7	3.02
800 (P₂)	4.383	5	5.627	5
1200 (P₃)	2.592	3.196	3.38	1.2
1600 (P₄)	9.862	9.13	7.312	10.22

La Figure 10 reprend ces mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

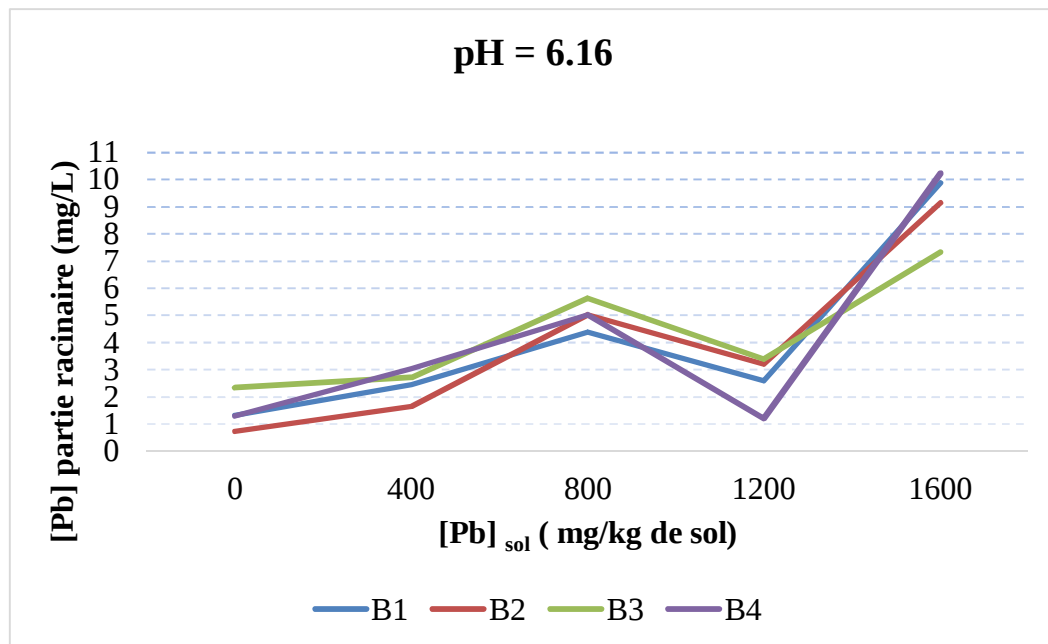


Figure 10 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 6,16

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

La Figure 10 nous montre l'absorption du plomb par la biomasse racinaire du colza en fonction de la concentration en plomb du sol, à pH 6,16.

Sur ce graphe, toutes les courbes suivent précisément la même allure ; seule une légère différence dans le taux d'absorption est présente. L'allure générale des courbes peut être découpée en trois phases :

- Une première phase d'absorption presque proportionnelle à la concentration du plomb présent dans le sol, allant de 0 à 800 ppm
- Une seconde phase, de 800 à 1200 ppm, durant laquelle une légère baisse de l'absorption est notable,
- Une troisième phase, comprise entre 1200 et 1600 ppm de plomb dans le sol, où l'absorption augmente fortement, passant d'une moyenne de 2,7 mg/L pour une concentration de 1200 ppm de plomb dans le sol à une moyenne de 9,1 mg/L pour une pollution de 1600 ppm.

II.1.3 – Troisième dose d'EDTA (pour un pH de 5) :

Le Tableau 11 compile les résultats de l'analyse chimique de la partie racinaire du colza ayant poussé sur un sol à pH = 5.

Tableau 11 : Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 5.

Troisième dose d'EDTA (pH = 5)				
Blocs [Pb] en ppm	B1	B2	B3	B4
Témoin (P₀)	1.309	0.712	2.332	1.289
400 (P₁)	1.743	1.48	2.069	1.312
800 (P₂)	2.216	1.827	4.258	2.884
1200 (P₃)	2.902	3.559	2.542	2.605
1600 (P₄)	6.028	2.701	2.411	2.089

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

La Figure 11 correspondante réunit ces mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

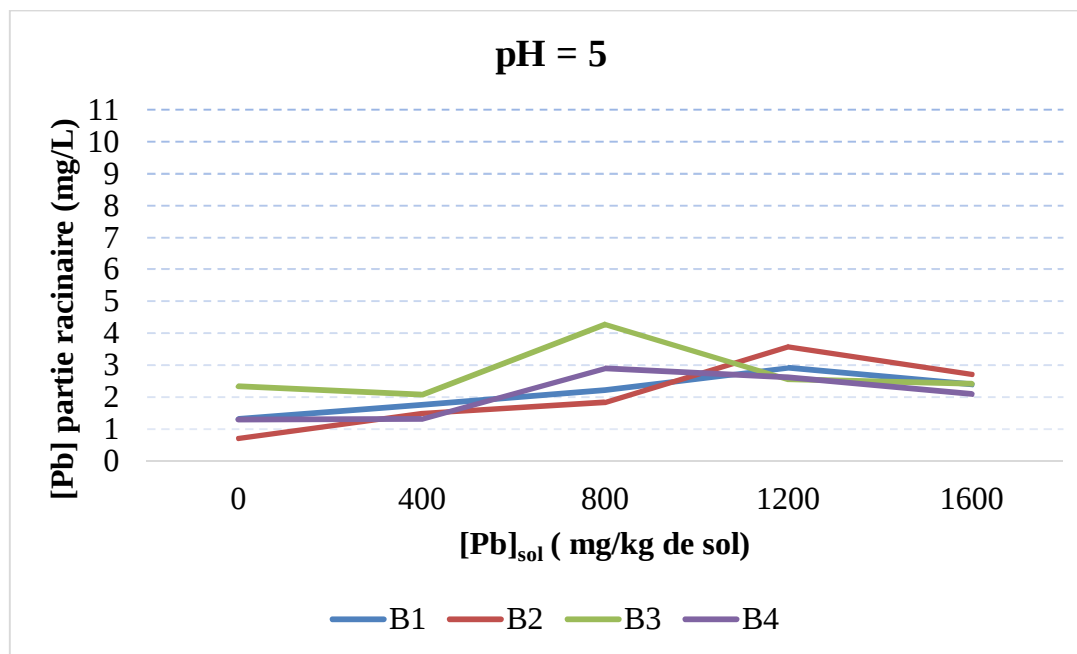


Figure 11 : Courbes représentant la variation de l'absorption du plomb par les racines de colza, à pH = 5.

La Figure 11 représente l'absorption du plomb par les racines du colza en fonction de la concentration du plomb dans le sol, pour un pH de 5 dans le sol.

Dans ce graphique, nous remarquons que l'allure des quatre courbes comporte une différence. En effet, les quatre répétitions semblent se partager en deux groupes : les courbes représentant les blocs 1 et 2 ont une allure similaire qui met en valeur une absorption de plomb presque proportionnelle jusqu'à une concentration de 1200 ppm de ce métal dans le sol, puis une légère baisse à une concentration de 1600 ppm ; d'autre part, les courbes représentant les blocs 3 et 4 montrent d'abord une légère baisse de l'absorption dans l'intervalle 0 à 400 ppm, puis une hausse de cette absorption entre 400 et 800 ppm de plomb dans le sol suivie d'une nouvelle baisse, plus importante cette fois.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

II.1.4 – Quatrième dose d'EDTA (pour un pH de 4,63) :

Le Tableau 12 réunit les résultats de l'analyse chimique de la biomasse racinaire de *Brassicca napus* ayant poussé sur un sol à pH = 4,63.

Tableau 12 : Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 4,63.

Quatrième dose d'EDTA (pH = 4.63)				
Blocs [Pb] en ppm	B1	B2	B3	B4
Témoin (P₀)	1.309	0.712	2.332	1.289
400 (P₁)	1.49	1.097	1.49	0.982
800 (P₂)	0.963	1.735	3.879	2.357
1200 (P₃)	3.257	3.669	7.716	5.768
1600 (P₄)	2.044	1.827	1.95	1.979

La Figure 12 reprend ces mêmes résultats en les présentant sous formes de courbes.

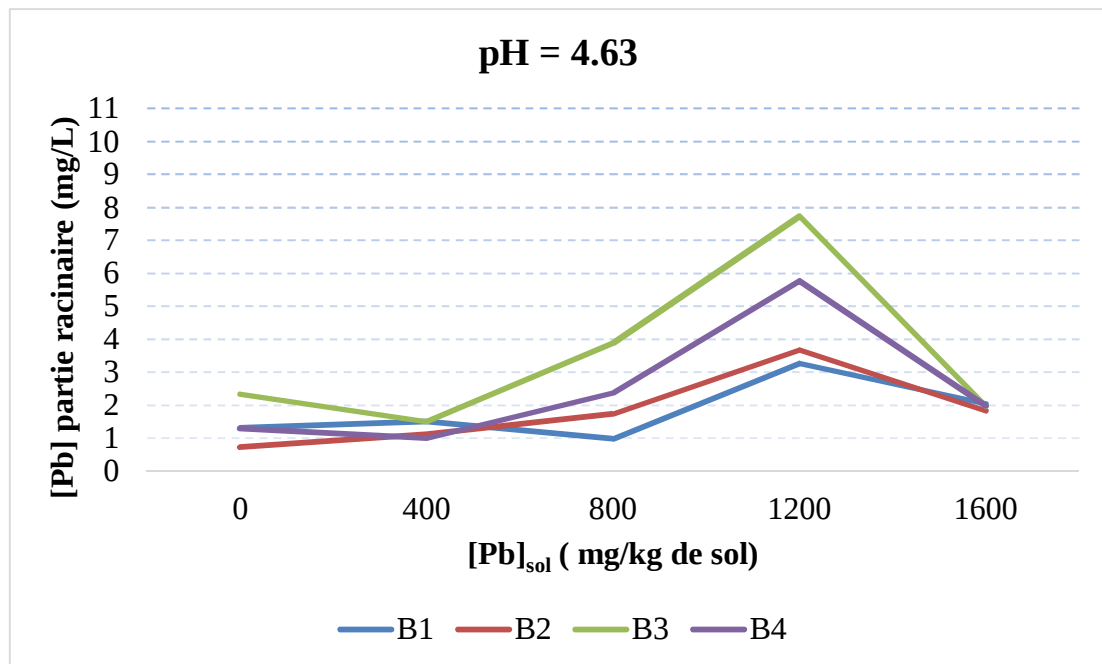


Figure 12 : Courbes de variation d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol à pH = 4,63.

Ce graphe nous montre l'absorption du plomb par le système racinaire du colza en fonction de la concentration du métal dans le sol, pour un sol à pH fixé à 4,63.

L'allure des quatre courbes est globalement similaire, malgré une baisse d'absorption entre 400 et 800 ppm de plomb dans le sol enregistrée pour le bloc 1.

Deux phases d'absorption se distinguent :

- Une première phase d'absorption accrue dans la plage de concentration allant de 0 à 1200 ppm,
- Une seconde phase, allant de 1200 à 1600 ppm de plomb dans le substrat de culture, où l'absorption diminue.

II.2 – Impact du pH sur le taux d'absorption du plomb par les racines :

Pour mieux comprendre l'effet des différentes doses d'EDTA appliquées au sol sur la capacité d'extraction du plomb par le système racinaire du colza, une analyse de ce dernier a été effectuée. Les résultats sont regroupés dans les Tableaux 13, 14, 15 et 16, et représentés respectivement dans les Figures 13, 14, 15 et 16.

II.2.1 – Première dose de plomb dans le sol ($P_1 = 400$ ppm) :

Le Tableau 123 reprend les résultats de l'analyse chimique du système racinaire du colza ayant poussé dans un sol contenant une dose $P_1 = 400$ ppm de plomb.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

Tableau 13 : Taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza sur un sol pollué à 400 ppm en fonction de la variation du pH du sol.

P₁ ([Pb]_{sol} = 400 ppm)				
Blocs Ph	B1	B2	B3	B4
7.54	1.855	1.281	2.857	1.998
6.16	2.45	1.641	2.7	3.02
5	1.743	1.48	2.069	1.312
4.63	1.49	1.097	1.49	0.982

La Figure 13 reprend les mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

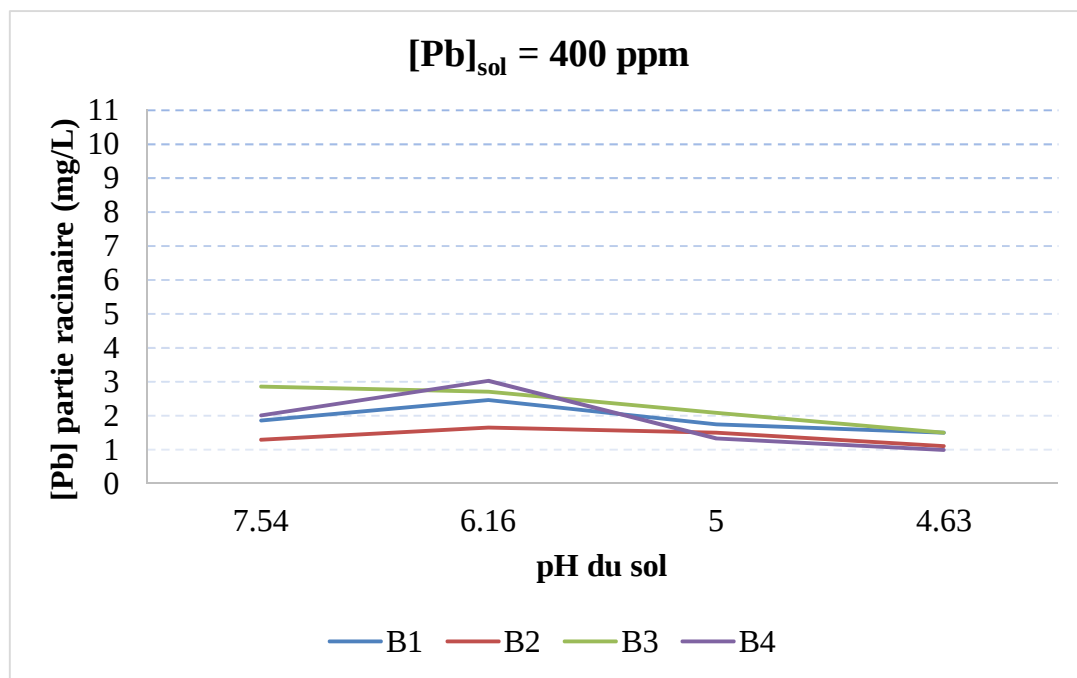


Figure 13 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 400 ppm de plomb.

La Figure 13 montre l'effet de l'EDTA sur l'absorption du plomb par le système racinaire du colza, pour une pollution de 400 ppm.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

L'allure des courbes est presque la même (hormis pour le bloc 3) et se décompose en deux phases : l'absorption augmente entre pH 7,54 et pH 6,16 puis diminue progressivement jusqu'à pH = 4,63.

Concernant le bloc 3, nous observons une baisse continue quasi linéaire de l'absorption du plomb entre pH 7,54 et pH 4,63.

II.2.2 – Deuxième dose de plomb dans le sol ($P_2 = 800$ ppm) :

Le Tableau 14 reprend les résultats de l'analyse chimique du système racinaire du colza ayant poussé dans un sol contenant une dose $P_2 = 800$ ppm de plomb.

Tableau 14 : Variation des taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza ayant poussé sur un sol pollué à 800 ppm en fonction de la variation du pH du sol.

P_2 ([Pb]_{sol} = 800 ppm)				
Blocs Ph	B1	B2	B3	B4
7.54	1.419	2.05	0.732	1.4
6.16	4.383	5	5.627	5
5	2.216	1.827	4.258	2.884
4.63	0.963	1.735	3.879	2.357

La Figure 14 reprend les mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes

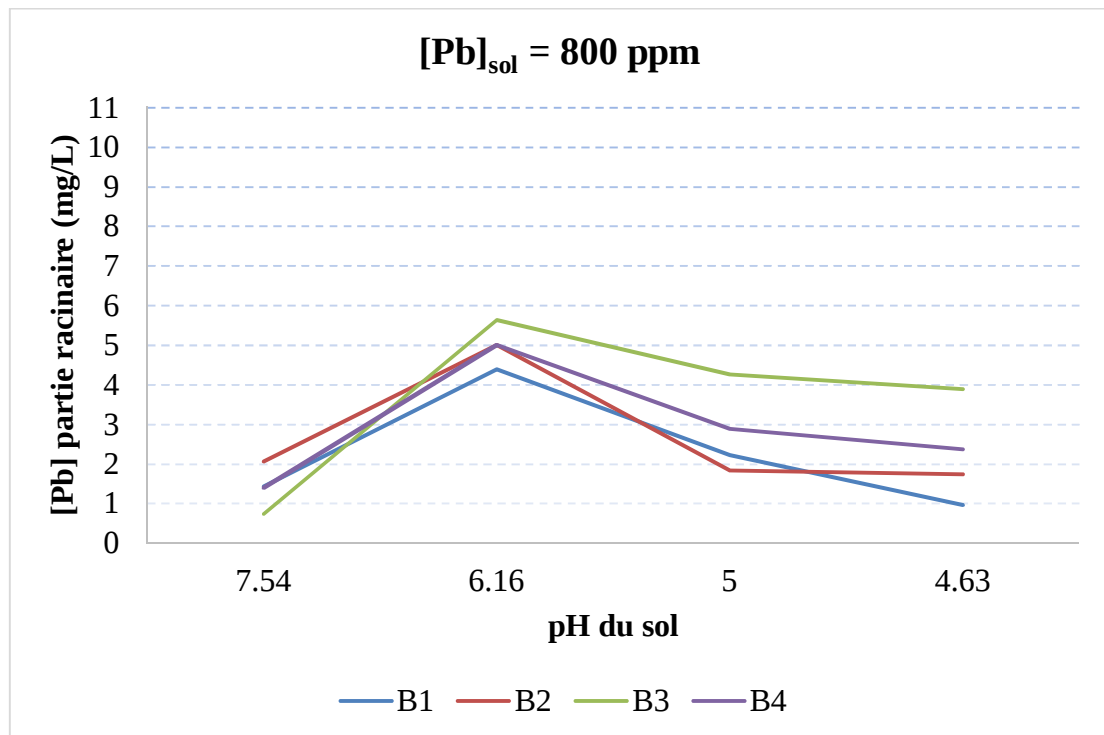


Figure 14 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 800 ppm de plomb.

La Figure 14 représente l'absorption du plomb par les racines du colza sur un sol ayant subi une pollution plombique de 800 ppm, en fonction du pH.

L'allure des courbes est la même pour les quatre répétitions : elle nous montre un accroissement de l'absorption dans l'intervalle de pH 7,54 à pH 6,16, puis une chute drastique de l'absorption jusqu'à pH 4,63.

II.2.3 – Troisième dose de plomb dans le sol ($P_3 = 1200$ ppm) :

Le Tableau 15 regroupe les résultats de l'analyse chimique du système racinaire de *Brassica napus* ayant poussé dans un sol contenant une dose $P_3 = 1200$ ppm de plomb.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

Tableau 15 : Variation des taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza ayant poussé sur un sol pollué à 1200 ppm en fonction de la variation du pH du sol.

P₃ ([Pb]_{sol} = 1200 ppm)				
Ph \ Blocs	B1	B2	B3	B4
7.54	6.011	8.05	5.943	4.041
6.16	2.592	3.196	3.38	1.2
5	2.902	3.559	2.542	2.605
4.63	3.257	3.669	7.716	5.768

La Figure 15 reprend les mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

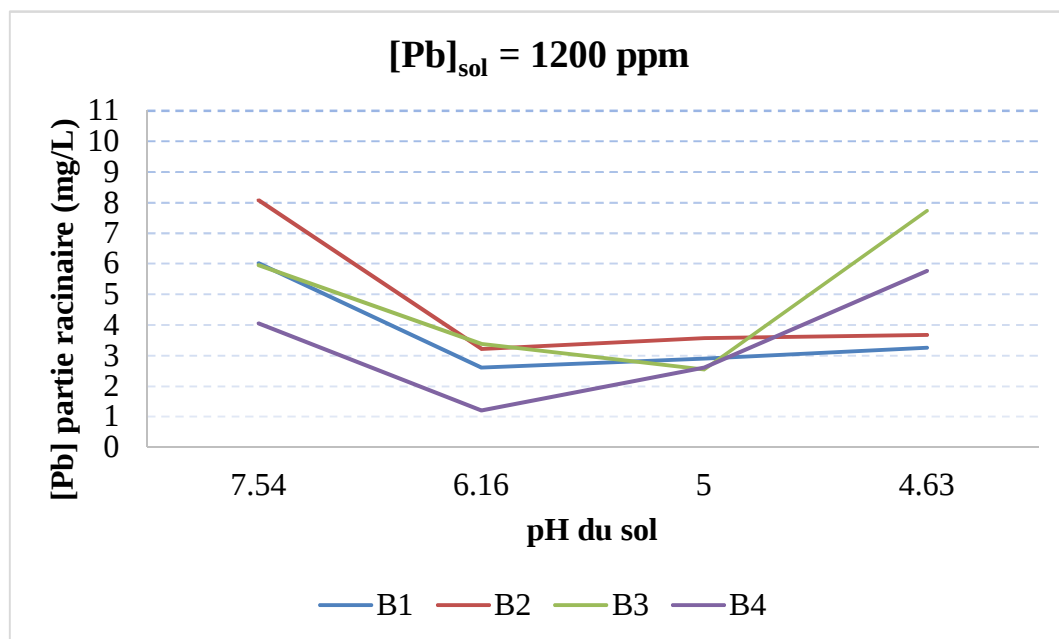


Figure 15 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 1200 ppm de plomb.

La Figure 15 représente l'absorption racinaire du plomb contenu dans le sol à la concentration de 1200 mg.kg⁻¹ en fonction de la variation du pH du sol.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

Ce graphe met en évidence une baisse de l'absorption entre pH 7,54 et pH 6,16 puis une hausse de ladite absorption jusqu'à pH 4,63.

Il est à noter que seul le bloc 3 semble réagir différemment : la diminution de l'absorption a lieu entre les pH 7,54 et 5, avant une augmentation jusqu'au pH 4,63.

II.2.4 – Quatrième dose de plomb dans le sol ($P_4 = 1600$ ppm) :

Le Tableau 16 réunit les données de l'analyse chimique de la partie racinaire du colza ayant poussé sur un sol contenant une dose $P_4 = 1600$ ppm.

Tableau 16 : Variation des taux d'absorption du plomb par la partie racinaire du colza ayant poussé sur un sol pollué à 1600 ppm en fonction de la variation du pH du sol.

P_4 ([Pb]_{sol} = 1600 ppm)				
Blocs Ph	B1	B2	B3	B4
7.54	3.781	3.402	5.576	2.366
6.16	9.862	9.13	7.312	10.22
5	2.396	2.701	2.411	2.089
4.63	2.044	1.827	1.95	1.979

La Figure 16 représente ces mêmes données en les présentant sous forme de courbes.

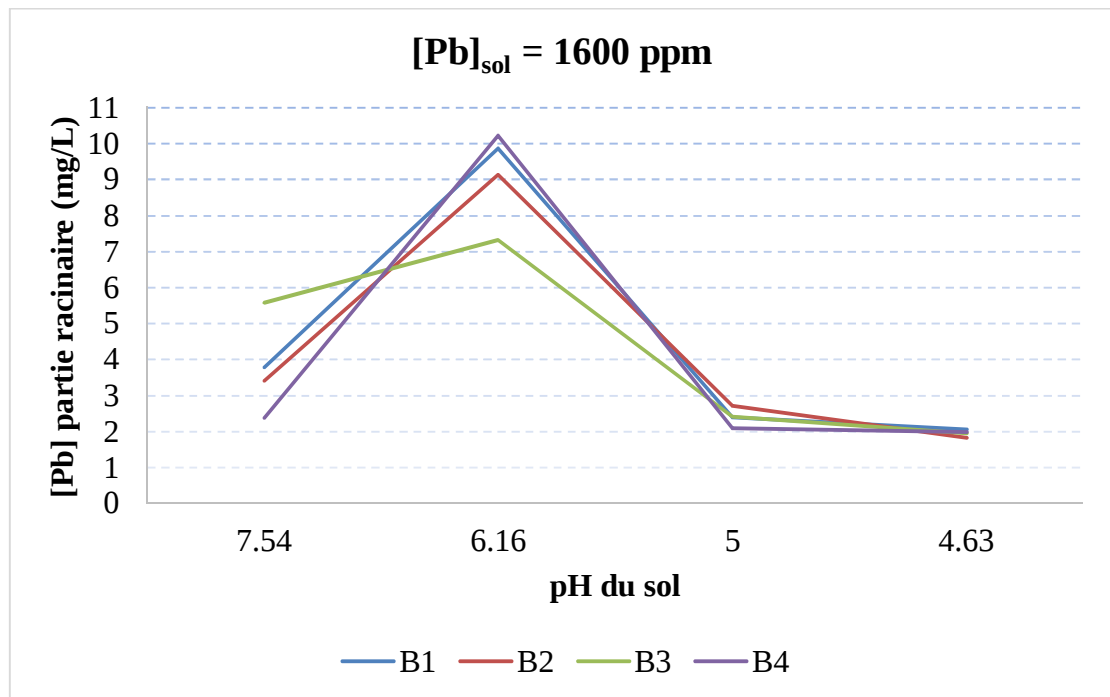


Figure 16 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la biomasse racinaire de *Brassica napus* en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 1600 ppm de plomb.

Sur ce graphe, nous remarquons que l'allure des quatre courbes représentant les quatre répétitions de l'expérimentation est similaire, malgré une nette différence dans les taux de plomb absorbés dans chaque bloc expérimental.

L'allure des quatre courbes de la Figure 16 peut être divisée en deux phases :

- Une première phase durant laquelle l'extraction du plomb augmente fortement en passant de pH 7,54 à pH 6,16,
- Une deuxième phase pendant laquelle l'absorption diminue, d'abord très fortement à pH 5, puis diminue sensiblement à pH 4,63.

II.3 – Impact des doses de plomb sur sa translocation vers la partie aérienne :

Afin de mieux comprendre l'effet des différentes doses de plomb sur la capacité d'extraction de cet élément par la biomasse aérienne du colza, une analyse de cette dernière a été effectuée. Les résultats sont regroupés dans les tableaux 17, 18, 19 et 20, et représentés dans les figures 17, 18, 19 et 20, respectivement.

II.3.1 – Première dose d'EDTA (pour un pH de 7,54) :

Le Tableau 17 regroupe les résultats de l'analyse chimique de la biomasse aérienne ayant poussé sur un sol à pH 7,54.

Tableau 17 : Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à
pH = 7,54

Première dose d'EDTA (pH = 7.54)				
Blocs [Pb] en ppm	B1	B2	B3	B4
Témoin (P₀)	0.15	0.33	0.28	0.1
400 (P₁)	0.29	1.04	1.086	0.805
800 (P₂)	0.13	0.645	0.19	0.32
1200 (P₃)	1.54	0.23	0.63	0.12
1600 (P₄)	2.61	1.712	1.576	0.95

La figure 17 reprend les mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

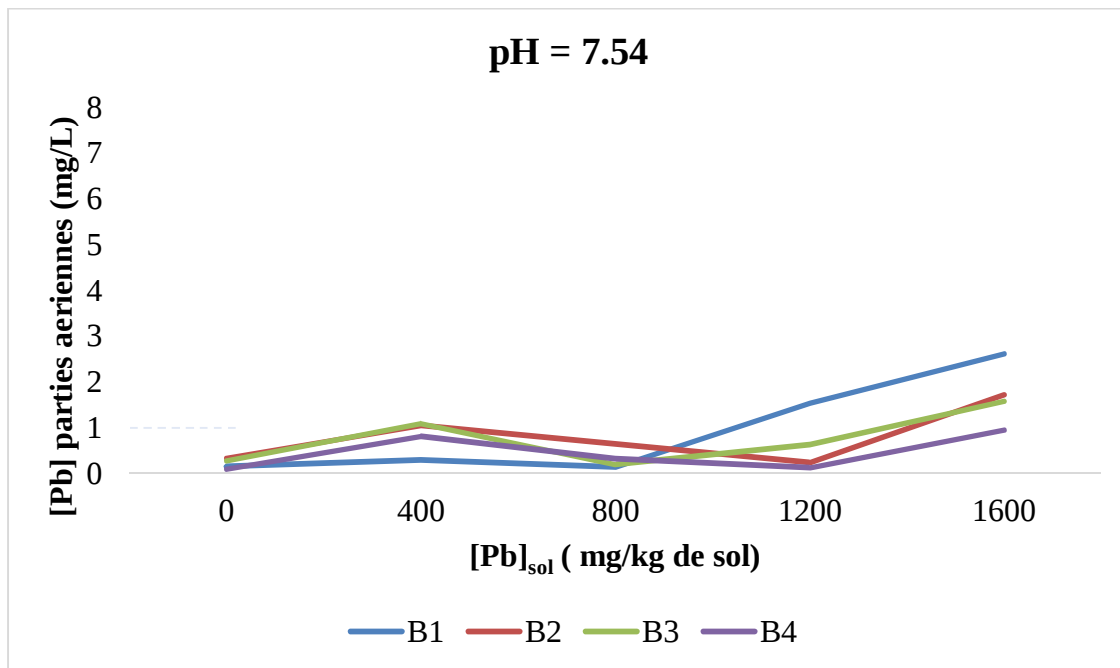


Figure 17 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 7,54.

La Figure 17 représente l'absorption, par la biomasse aérienne du colza, du plomb contenu dans le sol à pH 7,54.

L'allure des courbes de ce graphe est globalement similaire, malgré une légère différence entre les groupes de blocs 1 et 3, et 2 et 4.

Entre les concentrations en plomb dans le sol 0 et 400 ppm, les quatre blocs connaissent une légère hausse d'absorption.

Pour les blocs 1 et 3, l'absorption diminue ensuite sensiblement jusqu'à une concentration en plomb dans le sol de 800 ppm puis augmente jusqu'à la concentration 1600 ppm.

Quant aux blocs 2 et 4, nous remarquons que l'absorption baisse jusqu'à la concentration 1200 ppm de plomb dans le sol avant d'augmenter à 1600 ppm.

II.3.2 – Deuxième dose d'EDTA (pour un pH de 6,16) :

Le Tableau 18 regroupe les résultats de l'analyse chimique de la biomasse aérienne du colza ayant poussé sur un sol à pH 6,16.

Tableau 18 : Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 6,16

Deuxième dose d'EDTA (pH = 6.16)				
Blocs [Pb] en ppm	B1	B2	B3	B4
Témoin (P₀)	0.15	0.33	0.28	0.1
400 (P₁)	0.48	0.48	0.48	0.48
800 (P₂)	2.543	3.67	3.688	3.3
1200 (P₃)	5.13	7.94	5.42	3.2
1600 (P₄)	5.41	4.086	3.46	3.39

La Figure 18 reprend ces mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

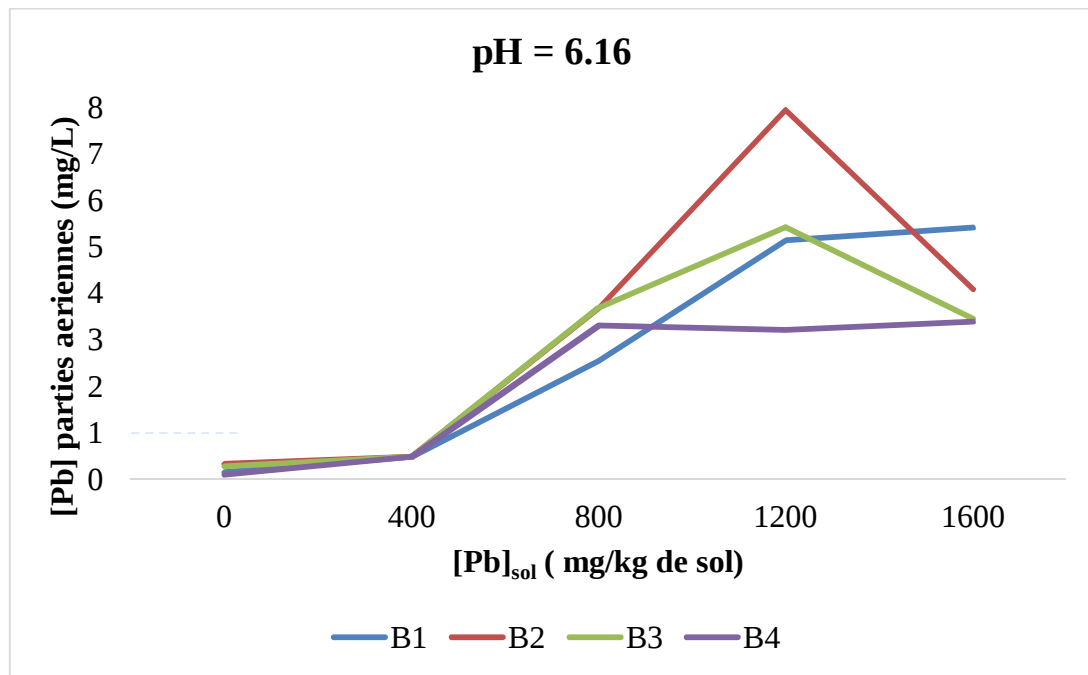


Figure 18 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 6,16.

La Figure 18 montre l'absorption par les feuilles de colza du plomb contenu dans un sol à pH 6,16.

Hormis pour le bloc 4, l'absorption du plomb augmente entre une concentration de métal dans le sol comprise entre 0 et 1200 ppm avant de se stabiliser ou de baisser à une concentration de 1600 ppm.

II.3.3 – Troisième dose d'EDTA (pour un pH de 5) :

Le Tableau 19 regroupe les résultats de l'analyse chimique de la biomasse aérienne du colza ayant poussé sur un sol à pH 5.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

Tableau 19 : Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 5.

Troisième dose d'EDTA (pH = 5)				
Blocs [Pb] en ppm	B1	B2	B3	B4
Témoin (P₀)	0.15	0.33	0.28	0.1
400 (P₁)	1.14	1.17	0.87	0.316
800 (P₂)	1.75	1.16	1.69	2.18
1200 (P₃)	1.905	3.75	1.905	2.52
1600 (P₄)	3.699	2.74	2.74	1.78

La figure 19 reprend ces mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

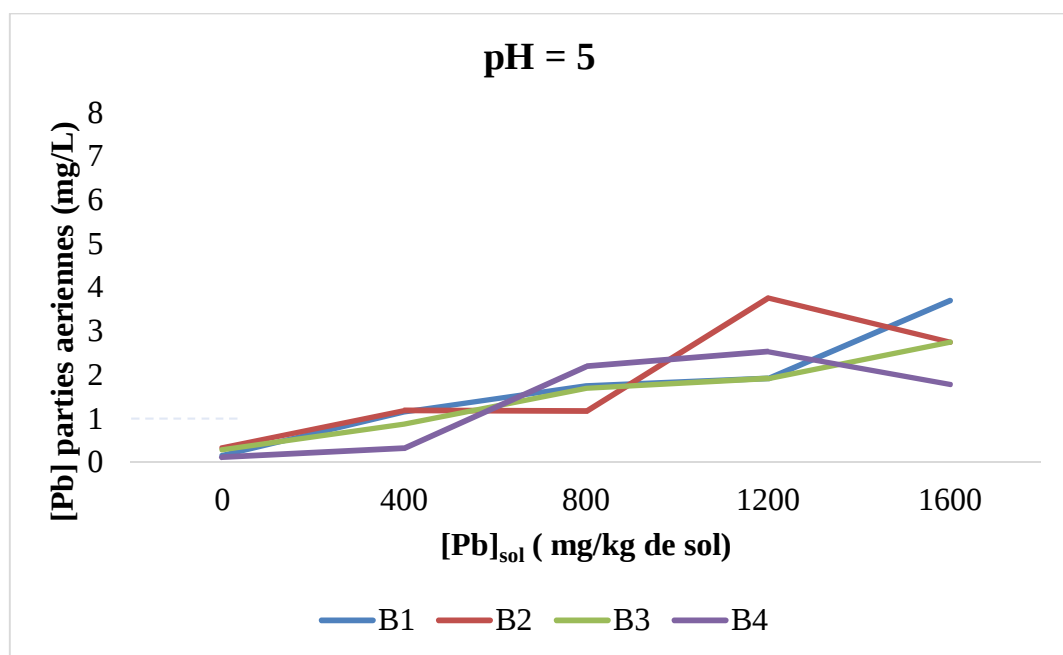


Figure 19 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 5.

La Figure 19 représente l'absorption du plomb par les feuilles du colza en fonction de la concentration en plomb sur un sol à pH 5.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

L'absorption, selon ce graphe, semble très hétérogène. En effet, seuls deux blocs sur quatre (les blocs 1 et 3) ont des courbes d'allures similaires montrant une absorption continue du métal contenu dans le sol.

Les deux autres courbes (blocs 2 et 4) montrent une baisse d'absorption à partir de la concentration en plomb dans le sol de 1200 ppm.

II.3.4 – Quatrième dose d'EDTA (pour un pH de 4,63) :

Le Tableau 20 regroupe les résultats de l'analyse chimique de la biomasse aérienne du colza ayant poussé sur un sol à pH 4,63.

Tableau 20 : Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 4,63.

Quatrième dose d'EDTA (pH = 4.63)				
Blocs [Pb] en ppm	B1	B2	B3	B4
Témoin (P₀)	0.15	0.33	0.28	0.1
400 (P₁)	0.88	0.785	1.221	1.998
800 (P₂)	1.185	1.185	1.54	2.26
1200 (P₃)	0.6	0.65	0.71	0.65
1600 (P₄)	2.863	1.88	2	0.78

La Figure 20 reprend les mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

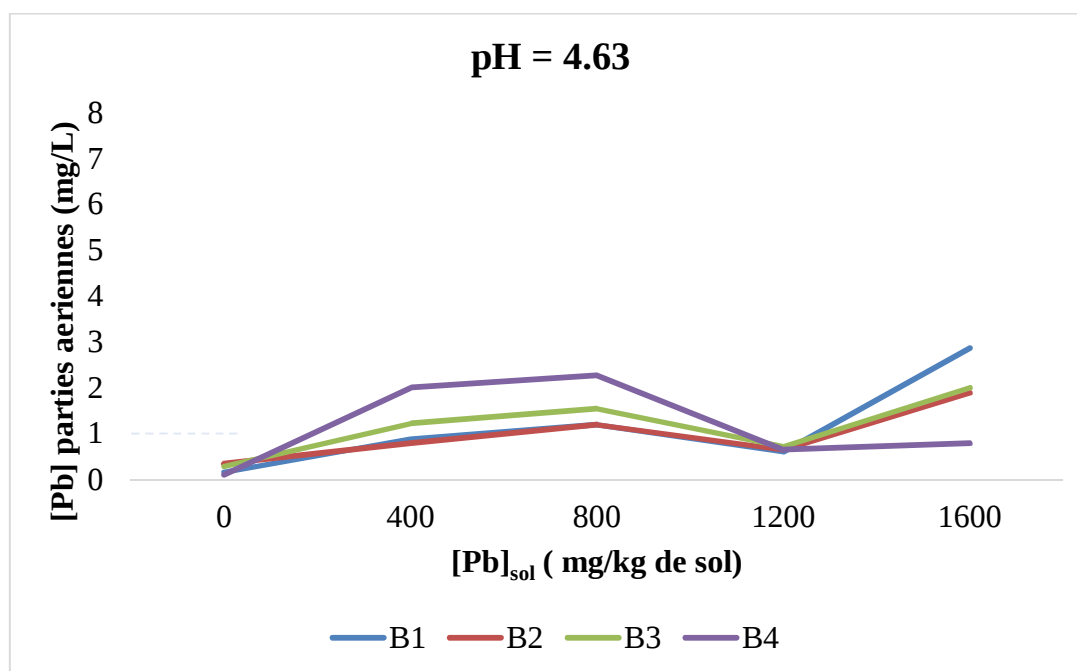


Figure 20 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol à pH = 4,63.

La Figure 20 montre l'absorption du plomb par les feuilles de colza, en fonction de la concentration du métal dans le sol, à pH = 4,63.

Les quatre courbes ont ici une allure parfaitement similaire mettant en évidence une absorption en hausse jusqu'à 800 ppm de plomb dans le sol, puis une baisse de l'absorption jusqu'à 1200 ppm suivie d'une nouvelle hausse à 1600 ppm de métal dans le sol.

II.4 – Impact du pH sur les taux de plomb transloqués vers la partie aérienne :

Afin de mieux comprendre l'effet des différentes doses d'EDTA appliquées au sol sur la translocation du plomb vers la partie aérienne, une analyse de cette dernière a été effectuée. Les résultats sont regroupés dans les tableaux 21, 22, 23 et 24, et représentés respectivement dans les figures 21, 22, 23 et 24.

II.4.1 – Première dose de plomb dans le sol ($P_1 = 400$ ppm) :

Le Tableau 21 regroupe les résultats de l'analyse chimique de la biomasse aérienne du colza ayant poussé sur un sol contenant une dose $P_1 = 400$ ppm de plomb.

Tableau 21 : Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol pollué par du plomb à une concentration de 400 ppm en fonction de la variation du pH du sol

P_1 ($[Pb]_{sol} = 400$ ppm)				
Blocs pH	B1	B2	B3	B4
7.54	0.29	1.04	1.086	0.805
6.16	0.48	0.48	0.48	0.48
5	1.14	1.17	0.87	0.316
4.63	0.88	0.785	1.221	1.998

La Figure 21 reprend ces mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

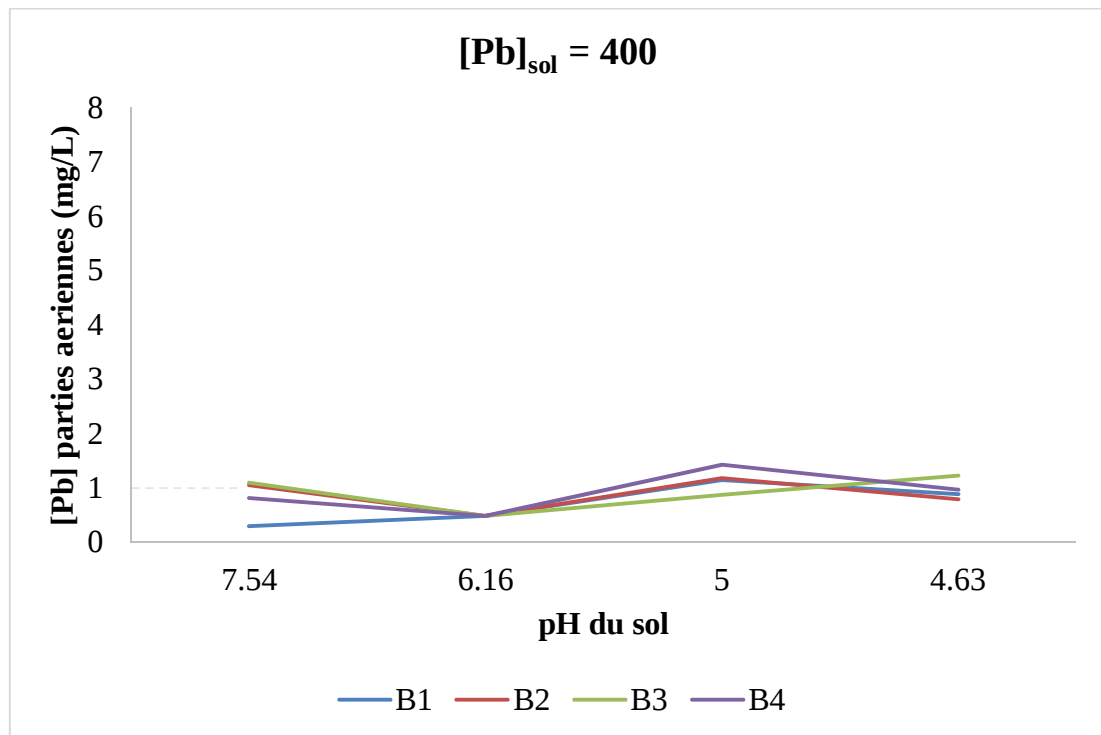


Figure 21 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 400 ppm de plomb.

La Figure 21 résume l'absorption du plomb contenu dans un sol ayant subi une pollution plombique fixée à 400 ppm par la biomasse aérienne du colza, en fonction du pH.

Ce graphe révèle trois stades :

- Un premier stade (entre pH 7,54 et pH 6,16) durant laquelle l'absorption du plomb diminue (hormis pour le bloc 1, où elle augmente)
- Un second stade, entre pH 6,16 et pH 5, où l'absorption augmente,
- Un troisième stade, entre pH 5 et pH 4,63, durant laquelle l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza diminue (hormis pour le bloc 3 pour lequel on constate que l'absorption poursuit sa hausse).

II.4.2 – Deuxième dose de plomb dans le sol ($P_2 = 800$ ppm) :

Le Tableau 22 regroupe les résultats de l'analyse chimique de la biomasse aérienne du colza ayant poussé sur un sol contenant une dose $P_2 = 800$ ppm de plomb.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

Tableau 22 : Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol pollué par du plomb à une concentration de 400 ppm en fonction de la variation du pH du sol.

P₂ ([Pb]_{sol} = 800 ppm)				
Blocs pH	B1	B2	B3	B4
7.54	0.13	0.645	0.19	0.32
6.16	2.543	3.67	3.688	3.3
5	1.75	1.16	1.69	2.18
4.63	1.185	1.185	1.54	2.26

La Figure 22 reprend ces mêmes valeurs en les présentant sous forme de courbes.

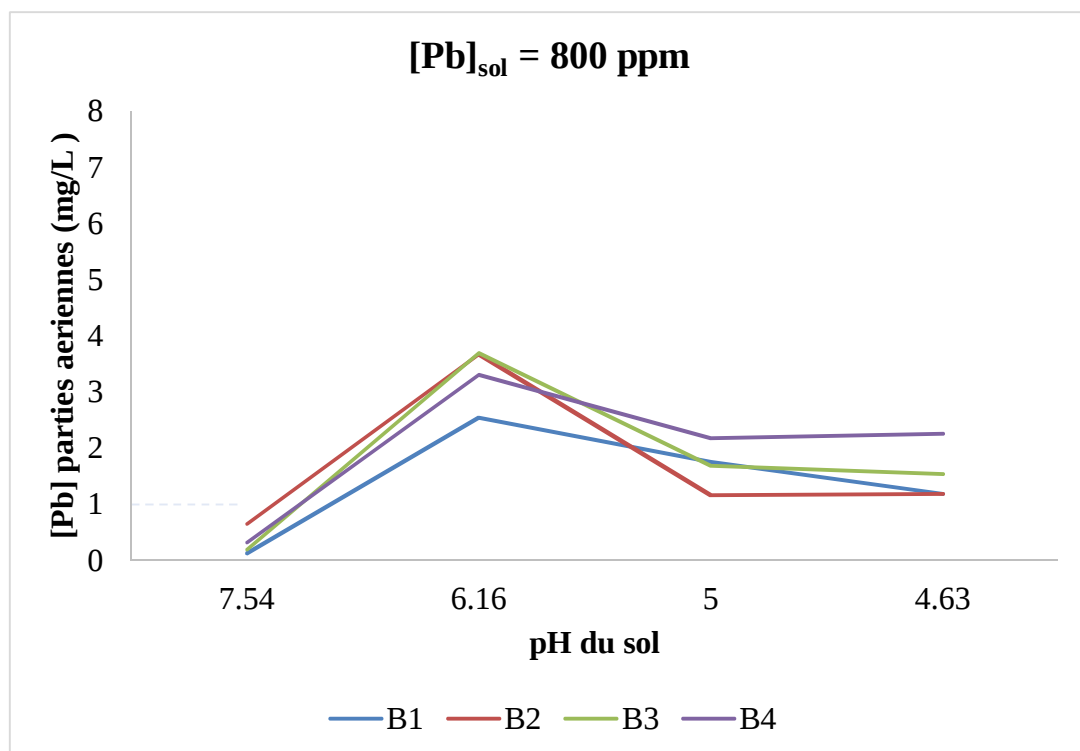


Figure 22 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 800 ppm de plomb.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

La Figure 22 représente la variation des taux d'absorption du plomb par le colza qui a poussé sur un sol ayant subi une pollution au plomb à la concentration de 800 ppm, en fonction de la variation du pH du sol.

Les courbes de ce graphe ont une allure parfaitement similaire que l'on peut découper en deux phases :

- Une première phase, comprise entre pH 7,54 et pH 6,16, durant laquelle l'extraction du plomb est en hausse,
- Une deuxième phase, qui va de pH 6,16 à pH 4,63, pour laquelle l'absorption est en constante baisse pour tous les blocs de l'expérimentation.

II.4.3 – Troisième dose de plomb dans le sol ($P_3 = 1200$ ppm) :

Le Tableau 23 réunit les résultats de l'analyse chimique de la biomasse aérienne du colza qui a poussé sur un sol ayant subi une pollution plombique fixée à 1200 ppm, en fonction de la variation du pH de ce sol.

Tableau 23 : taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol pollué par du plomb à une concentration de 1200 ppm en fonction de la variation du pH du sol.

P₃ ([Pb]_{sol} = 1200 ppm)				
Blocs pH	B1	B2	B3	B4
7.54	1.54	0.23	0.63	0.12
6.16	5.13	7.94	5.42	3.2
5	1.905	3.75	1.905	2.52
4.63	0.6	0.65	0.71	0.65

La Figure 23 reprend les mêmes valeurs en les présentant sous forme de courbes.

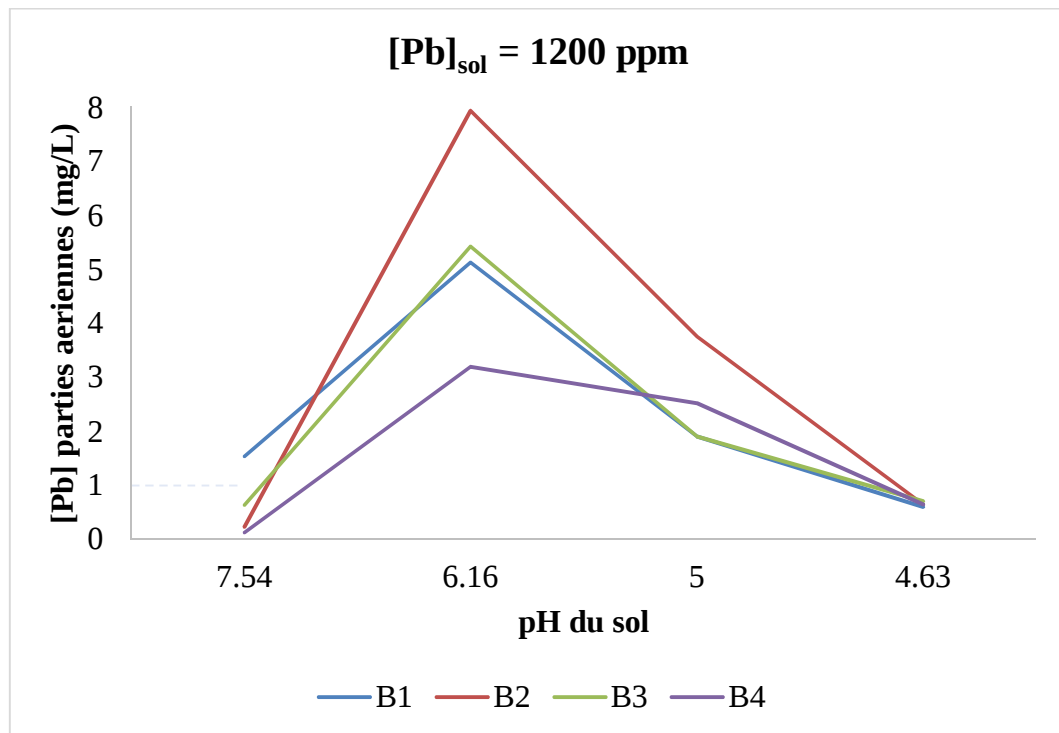


Figure 23 : Courbes de variation de l'absorption du plomb pour la partie aérienne du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 1200 ppm de plomb.

La Figure 23 représente la variation des taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza ayant poussé sur un sol qui a subi une pollution plombique à une concentration de 1200 ppm.

L'allure des courbes de ce graphe est la même, malgré une nette différence dans les taux de plomb absorbés par chaque bloc expérimental.

Ce graphe fait ressortir deux phases dans l'absorption du plomb par la partie aérienne de *Brassica napus* :

- Une première phase, située entre pH 7,54 et pH 6,16 (où l'on voit le pic d'absorption), durant laquelle l'absorption augmente,
- Une seconde phase durant laquelle l'absorption chute, entre pH 6,16 et pH 4,63.

II.4.4 – Quatrième dose de plomb dans le sol ($P_4 = 1600$ ppm) :

Le tableau 24 regroupe les résultats de l'analyse chimique de la biomasse aérienne du colza qui a poussé sur un sol ayant subi une pollution plombique de 1600 ppm en fonction de la variation du pH du sol.

Tableau 24 : Taux d'absorption du plomb par la partie aérienne du colza sur un sol pollué par du plomb à une concentration de 1600 ppm en fonction de la variation du pH du sol.

Parties aériennes [Pb] = 1600				
Blocs pH	B1	B2	B3	B4
7.54	2.61	1.712	1.576	0.95
6.16	5.41	4.086	3.46	3.39
5	3.699	2.74	2.74	1.78
4.63	2.863	1.88	2	0.78

La Figure 24 correspondante reprend les mêmes résultats en les présentant sous forme de courbes.

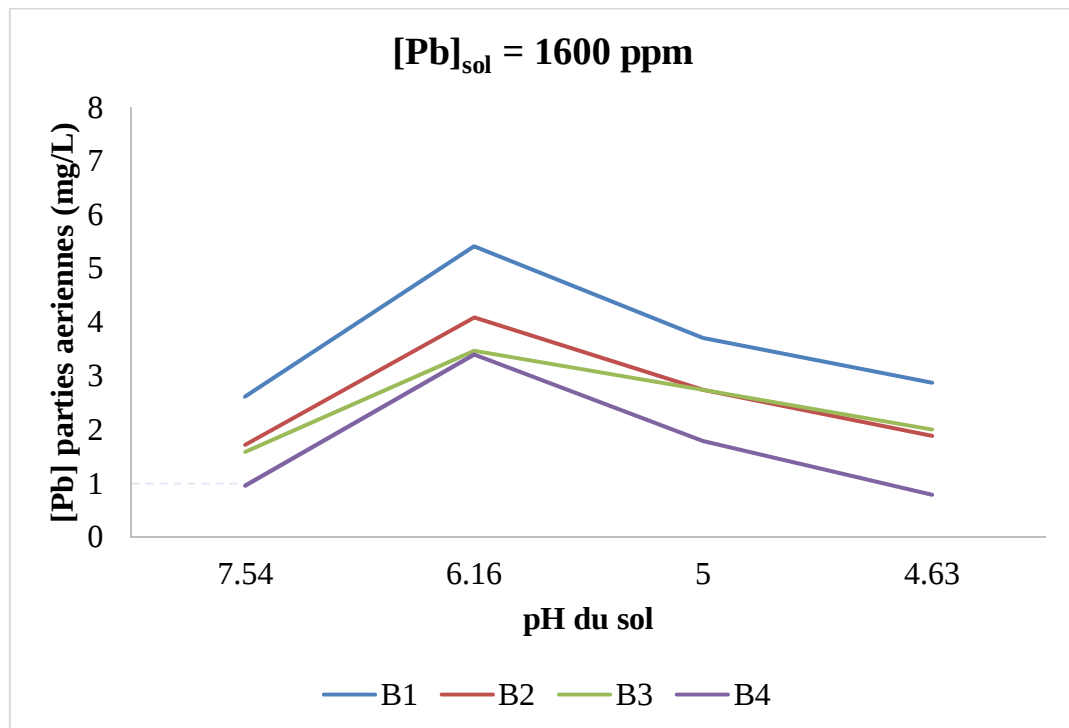


Figure 24 : Courbes de variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza en fonction de la variation du pH du sol pollué à une concentration de 1600 ppm de plomb.

La Figure 24 résume la variation de l'absorption du plomb par la partie aérienne du colza qui a poussé sur un sol ayant subi une pollution plombique fixée à 1600 ppm, en fonction de la variation du pH du sol.

Nous constatons que malgré une forte différence dans les taux de plomb extrait par chaque bloc, l'allure des courbes est strictement identique et se divise en deux phases :

- Une première phase d'absorption en hausse lorsque le pH du sol passe de 7,54 à 6,16 (avec un pic d'absorption situé à pH 6,16),
- Une deuxième phase, entre pH 6,16 et 4,63, durant laquelle l'absorption est en baisse.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

III – Rapports de transfert (C.E.) et rapports de translocation (F.T.) du plomb :

III.1 – Rapport de transfert du plomb du sol vers la biomasse racinaire du colza :

Le rapport de transfert du polluant métallique, aussi appelé coefficient d'extraction et abrégé CE, consiste en le calcul du rapport de la concentration d'un élément trace métallique dans les tissus d'un végétal sur la concentration totale de l'élément dans l'environnement immédiat de la plante.

Les différents calculs concernant la partie racinaire du colza ont été faits selon la méthodologie décrite ci-dessus et les résultats sont présentés dans le Tableau 25.

Tableau 25 : Coefficient d'extraction du plomb par la biomasse racinaire du colza.

Dose de plomb dans le sol	Dose d'EDTA	Rapport de transfert du sol vers la racine
P₁ (400 ppm)	E₁ (pH = 7,54)	24,97 %
	E₂ (pH = 6,16)	30,66 %
	E₃ (pH = 5)	20,64 %
	E₄ (pH = 4,63)	15,81 %
P₂ (800 ppm)	E₁ (pH = 7,54)	8,75 %
	E₂ (pH = 6,16)	31,27 %
	E₃ (pH = 5)	17,48 %
	E₄ (pH = 4,63)	13,96 %
P₃ (1200 ppm)	E₁ (pH = 7,54)	25,05 %
	E₂ (pH = 6,16)	10,80 %
	E₃ (pH = 5)	12,09 %
	E₄ (pH = 4,63)	21,26 %
P₄ (1600 ppm)	E₁ (pH = 7,54)	11,82 %
	E₂ (pH = 6,16)	28,53 %
	E₃ (pH = 5)	7,50 %
	E₄ (pH = 4,63)	6,09 %

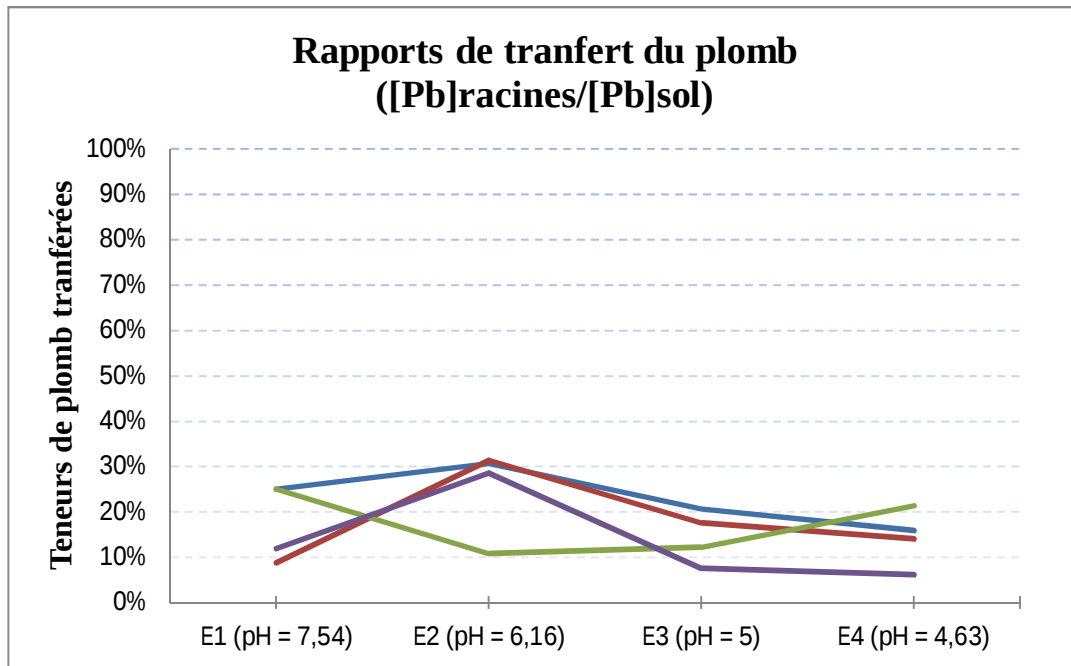


Figure 25 : Evolution des rapports de transfert du plomb du sol vers les racines du colza en fonction du pH.

La Figure 25 révèle deux lots de courbes ayant la même allure. Pour les doses P_1 , P_2 et P_4 (respectivement 400 ppm, 800 ppm et 1600 ppm), l'extraction du plomb en fonction du pH se fait en suivant deux stades :

- Un premier stade d'accroissement de l'extraction, avec un pic d'absorption à pH 6,16 ;
- Un second stade durant lequel l'extraction diminue progressivement (P_1) ou brutalement (P_4).

Quant à l'extraction du plomb par les racines du colza sur un sol contenant initialement une dose P_3 de pollution (1200 ppm), elle suit une allure différente des trois autres courbes. En effet, l'extraction chute entre pH 7,54 et pH 6,16 avant d'augmenter lentement jusqu'à pH 4,63.

III.2 – Rapport de translocation du plomb extrait depuis le sol de la biomasse racinaire vers la biomasse aérienne :

Le rapport de translocation, aussi appelé facteur de translocation et abrégé F.T., est le rapport des teneurs d'un élément trace métallique selon différents organes d'une plante afin de déterminer la répartition préférentielle du métal dans la plante.

Les résultats du calcul des rapports de translocation du plomb de la biomasse racinaire vers la biomasse aérienne sont réalisés en considérant les moyennes des concentrations de plomb extrait dans chaque répétition pour chaque dose de métal initialement présente dans le sol. Ces résultats sont regroupés dans le Tableau 26 et représentés dans la Figure 26.

Tableau 26 : Facteur de translocation du plomb de la biomasse racinaire vers la biomasse aérienne du colza.

Dose de plomb dans le sol	Dose d'EDTA	Rapport de translocation de la racine vers la biomasse aérienne
P₁ (400 ppm)	E ₁ (pH = 7,54)	40,31 %
	E ₂ (pH = 6,16)	19,57 %
	E ₃ (pH = 5)	52,94 %
	E ₄ (pH = 4,63)	96,54 %
P₂ (800 ppm)	E ₁ (pH = 7,54)	22,94 %
	E ₂ (pH = 6,16)	65,97 %
	E ₃ (pH = 5)	60,62 %
	E ₄ (pH = 4,63)	69,06 %
P₃ (1200 ppm)	E ₁ (pH = 7,54)	10,48 %
	E ₂ (pH = 6,16)	209,20 %
	E ₃ (pH = 5)	86,84 %
	E ₄ (pH = 4,63)	12,79 %
P₄ (1600 ppm)	E ₁ (pH = 7,54)	45,27 %
	E ₂ (pH = 6,16)	44,75 %
	E ₃ (pH = 5)	114,19 %
	E ₄ (pH = 4,63)	96,45 %

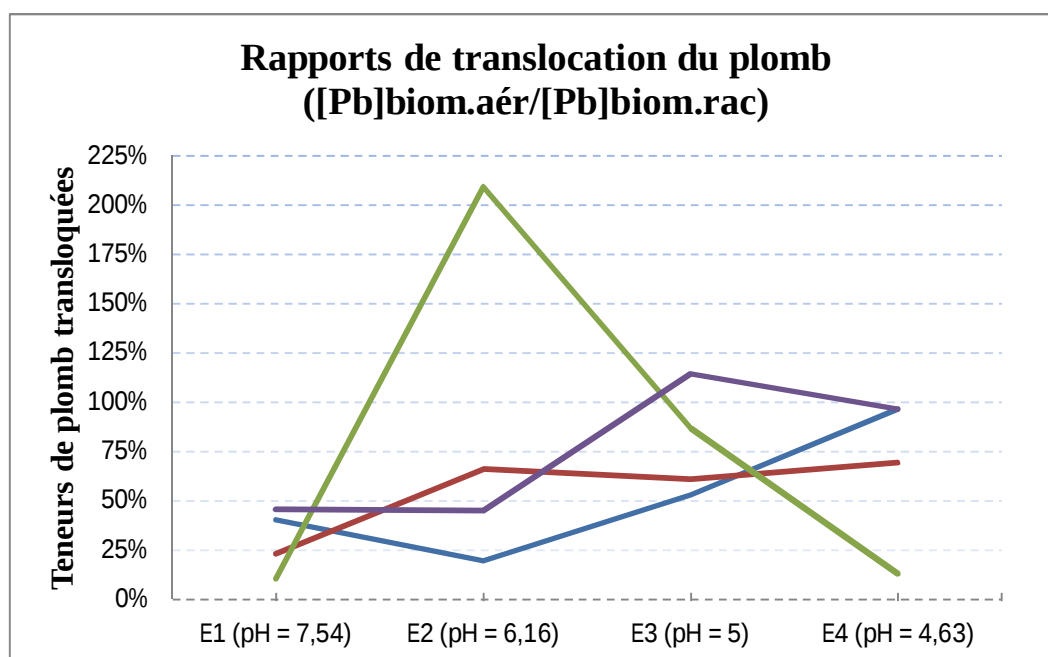


Figure 26 : Evolution des facteurs de translocation du plomb pour chaque dose de métal en fonction du pH du sol.

Nous remarquons sur la Figure 26 que les quatre courbes se répartissent selon deux allures différentes.

En effet, les courbes associées aux doses P_1 et P_4 (respectivement 400 ppm et 1600 ppm) montrent une translocation de plomb en légère baisse entre pH 7,54 et pH 6,16 suivie d'une hausse.

En revanche, les courbes relatives aux doses de plomb dans le sol P_2 et P_3 (respectivement 800 ppm et 1200 ppm) révèlent une hausse de la translocation du plomb depuis le système racinaire vers la partie aérienne entre pH 7,54 et pH 6,16, puis une baisse plus ou moins prononcée de cette translocation.

Nous remarquons également que le plus haut taux de translocation a lieu pour une dose P_3 de plomb dans le sol à pH 6,16. Le Tableau 26 montre que pour l'association de ces doses (P_3E_2 pour 1200 ppm de plomb dans un sol à pH 6,16), la biomasse aérienne contient plus du double des teneurs de plomb contenues dans le système racinaire du colza (209,2 %).

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

Une autre valeur est également remarquable : les teneurs de plomb transloquées des racines vers la partie aérienne du colza lors de l'association des doses de plomb et d'EDTA P₄E₃ (une pollution par le plomb à 1600 ppm et un pH de 5) sont de 114,2 %.

III.3 – Rapport de transfert du plomb du sol vers la plante entière :

Les mêmes calculs ont été faits en considérant, cette fois-ci, les concentrations moyennes de plomb dans la plante entière (racines et parties aériennes) au lieu de celles contenues dans le système racinaire uniquement.

Les résultats sont résumés dans le Tableau 27, synthétisés et repris sous forme de courbes dans la Figure 27.

Tableau 27 : Coefficient d'extraction du plomb par la plante entière.

Dose de plomb dans le sol	Dose d'EDTA	Rapport de transfert du sol vers la plante entière
P ₁ (400 ppm)	E ₁ (pH = 7,54)	35,04 %
	E ₂ (pH = 6,16)	36,66 %
	E ₃ (pH = 5)	31,56 %
	E ₄ (pH = 4,63)	31,07 %
P ₂ (800 ppm)	E ₁ (pH = 7,54)	10,76 %
	E ₂ (pH = 6,16)	51,89 %
	E ₃ (pH = 5)	28,07 %
	E ₄ (pH = 4,63)	23,60 %
P ₃ (1200 ppm)	E ₁ (pH = 7,54)	27,67 %
	E ₂ (pH = 6,16)	33,39 %
	E ₃ (pH = 5)	22,59 %
	E ₄ (pH = 4,63)	23,98 %
P ₄ (1600 ppm)	E ₁ (pH = 7,54)	17,17 %
	E ₂ (pH = 6,16)	41,30 %
	E ₃ (pH = 5)	16,06 %
	E ₄ (pH = 4,63)	11,97 %

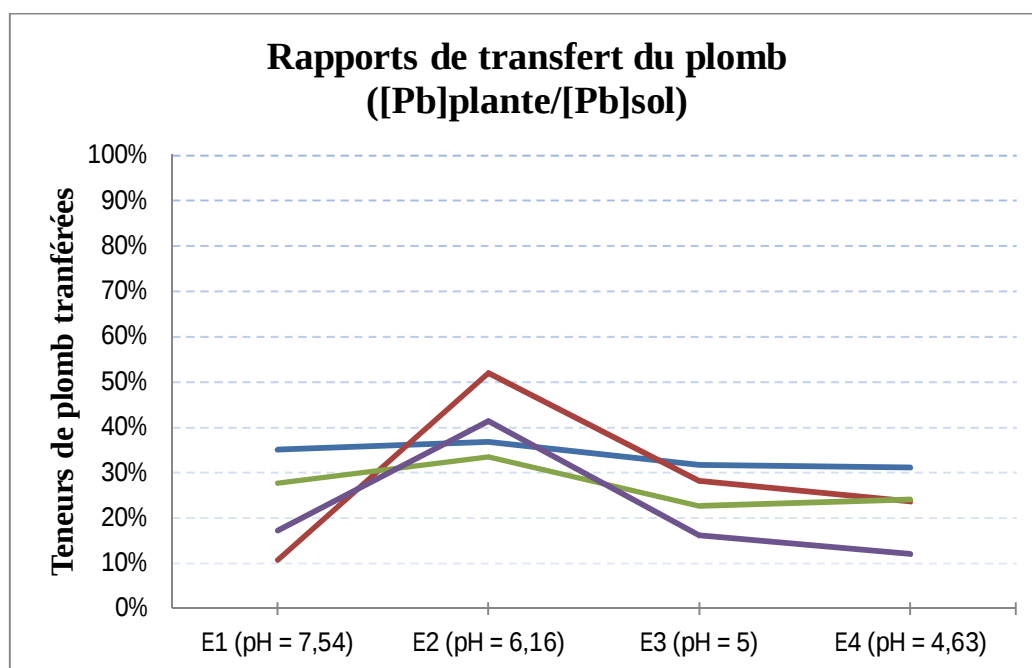


Figure 27 : Evolution des coefficients d'extraction du plomb, en fonction du pH du sol, considérant l'ensemble des organes du colza.

Notons d'abord que les quatre courbes, concernant les quatre doses de plomb initialement présentes dans le sol, suivent toutes la même allure. Nous remarquons en effet deux phases d'extraction ; l'absorption du plomb par la plante augmente entre pH 7,54 et pH 6,16, avec un pic d'extraction à pH 6,16, puis baisse jusqu'à pH 4,63.

La Figure 27 nous renseigne ensuite grandement quant à la répartition préférentielle du plomb extrait dans les tissus de la plante étudiée. Les courbes relatives aux doses de plomb dans le sol P₁, P₂ et P₄ suivent la même allure que dans la Figure 25 ; la seule courbe à avoir changé en considérant la biomasse aérienne et la biomasse racinaire dans ces calculs est la courbe relative à la dose P₃ (1200 ppm) de plomb dans le sol. Cela prouve que le colza, lorsqu'il est confronté à une concentration de 1200 mg de plomb par kilogramme de sol, transfère la majorité du métal extrait vers sa biomasse aérienne. Autrement dit, la dose efficace pour la dépollution de notre sol par la plante entière de colza est l'association des doses de plomb P₃ et d'EDTA E₂, soit 1200 mg de plomb par kilogramme de sol et un pH de 6,16.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

IV – Analyse statistique des données :

IV.1 – Analyse de variance à deux critères de classification :

IV.1.1 – Analyse de variance pour la biomasse aérienne :

IV.1.1.1 – Tableau d'analyse de variance de la partie aérienne :

L'analyse statistique des données obtenues après analyse chimique des échantillons a été réalisée à l'aide du logiciel StatBox®.

Tableau 28 : Résultat de l'analyse de variance de la biomasse aérienne.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var. Totale	185,421	79	2,347				
Var.Facteur 1 ([Pb])	63,838	4	15,96	36,55	0		
Var.Facteur 2 (EDTA)	43,782	3	14,594	33,423	0		
Var.Inter F1*2	50,615	12	4,218	9,66	0		
Var.Blocs	2,297	3	0,766	1,753	0,16486		
Var.Résiduelle 1	24,889	57	0,437			0,661	42,99%

L'analyse de variance réalisée à deux facteurs de classification (Facteur 1 : taux d'extraction du plomb ; Facteur 2 : pH du sol après ajout d'EDTA) sur les feuilles de *Brassica napus* nous révèle une différence très hautement significative entre chacune des doses de plomb absorbées par la partie aérienne de la plante, avec une fonction observée de 0 pour le facteur plomb. Ce qui implique qu'une variabilité croissante de la concentration du plomb dans le sol induit une variabilité croissante, très hautement significative, de l'absorption du métal par la biomasse aérienne de la plante.

De même pour le Facteur 2 (pH du sol), nous observons une différence très hautement significative de l'absorption du plomb par les organes aériens de la plante en fonction de la variabilité du pH du sol. En effet, nous remarquons que plus le pH du sol est faible, plus la concentration du métal dans la plante est élevée ; en d'autres termes, plus le sol est acide, plus l'extraction du plomb par le colza est importante.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

De plus, l'interaction des deux facteurs (concentration du métal dans le sol et pH du sol) fait également apparaître une différence très hautement significative quant à l'extraction de ce métal par la plante. En des termes plus clairs, cela veut dire que l'acidité du milieu tend à augmenter la biodisponibilité du plomb pour la plante, ce qui implique qu'il soit plus facilement absorbé à de grandes teneurs.

IV.1.1.2 – Test de comparaisons des moyennes :

L'analyse de la plus petite différence significative, par l'utilisation du test de Newman et Keuls au seuil d'erreur de 5%, nous aide à visualiser les niveaux où se situent les différences observées, et nous permet aussi de mieux comprendre l'analyse de variance afin de pouvoir hiérarchiser les niveaux les plus discriminants pour tous les facteurs étudiés.

IV.1.1.2.1 – Comparaison de moyennes pour le Facteur 1 (Facteur Plomb) :

Ainsi, pour le facteur Plomb, quatre (04) groupes homogènes s'individualisent : il s'agit des groupes A, B, C et D (Tableau 29).

Tableau 29 : Comparaison des moyennes pour le Facteur 1 (Facteur [Pb]) : test de Newman-Keuls (seuil = 5%).

F1 ([Pb])	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
5.0	P4 (1600 ppm)	2,605	A			
4.0	P3 (1200 ppm)	2,306	A			
3.0	P2 (800 ppm)	1,715		B		
2.0	P1 (400 ppm)	0,845			C	
1.0	P0 (0 ppm)	0,215				D

Le groupe homogène A comprend les deux plus grandes doses de plomb appliquées au sol (il s'agit des doses P₄ et P₃ qui partagent le même groupe homogène). Cela signifie qu'il n'y a pas de différences significatives du taux d'absorption du plomb par les plantes entre ces

deux doses. En somme, si l'on augmente la concentration du plomb dans le sol au-delà de la dose P₃, la plante gardera le même taux d'absorption de ce métal.

En revanche, entre le sol témoin (non contaminé par le plomb) et la dose P₃, le taux d'absorption du métal par la plante augmente en fonction de l'augmentation de la concentration du métal dans le sol.

IV.1.1.2.2 – Comparaison des moyennes pour le Facteur 2 (Facteur EDTA) :

Pour le Facteur EDTA, le test de Newman et Keuls fait ressortir trois groupes homogènes que sont les groupes A, B et C.

La plus forte absorption du plomb par la plante a lieu avec la dose E₂ d'EDTA, ce qui équivaut à un pH du sol de 6,16. Plus le pH diminue, plus le taux d'absorption du plomb par la plante diminue.

Tableau 30 : Comparaison des moyennes pour le Facteur 2 (Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.

F2 (EDTA)	LIBELLES	MOYENNES	GROUPEs HOMOGENES		
2.0	E2 (pH = 6,16)	2,701	A		
3.0	E3 (pH = 5)	1,609		B	
4.0	E4 (pH = 4,63)	1,102			C
1.0	E1 (pH = 7,54)	0,737			C

Ce test révèle également que le taux d'absorption du plomb par la plante diminue significativement à partir de la dose E₃, allant presque jusqu'à s'annuler à la dose E₄. En effet, pour un pH du sol inférieur à 6,16 (correspondant à la dose d'EDTA E₂), l'absorption du plomb chute à tel point qu'elle n'est plus significativement différente entre les doses E₁ et E₄, ces deux doses ne formant qu'un seul et même groupe homogène (le groupe C). Ce qui signifie que la plante a tendance à limiter son absorption pour cet élément à des doses qui lui seraient toxiques.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

IV.1.1.2.3 – Comparaison des moyennes pour l'interaction Facteur 1 * Facteur 2 (Facteur Plomb * Facteur EDTA) :

Concernant l'interaction des deux facteurs, le test de comparaison des moyennes nous permet de constater que la plus forte concentration de plomb dans la partie aérienne du colza a lieu avec la dose 3 de métal ($P_3 = 1200$ ppm de plomb dans le sol) associée à la dose 2 d'EDTA (E_2 pour un pH du sol de 6,16). Autrement dit, la plus forte extraction (par les feuilles de colza) du plomb présent dans le sol se produit sur un sol à pH de 6,16 à la seule condition que ce sol ne contienne pas une concentration en plomb supérieure à 1200 mg.kg^{-1} . Si l'on dépasse la dose P_3 pour passer à la dose P_4 et que l'on applique de plus grandes doses d'EDTA, le taux d'absorption sera si réduit que nous ne constaterons aucune différence d'absorption entre les doses d'EDTA E_1 et E_4 sur un sol contenant une dose P_4 de plomb. En effet, les interactions P_4E_1 et P_4E_4 ne forment qu'un seul groupe homogène (groupe D).

Tableau 31 : Comparaison des moyennes pour l'interaction des deux facteurs (interaction Facteur [Pb] * Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.

F1 * F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
4.0 2.0	P3 E2 (1200 ppm * pH 6,16)	5,423	A			
5.0 2.0	P4 E2 (1600 ppm * pH 6,16)	4,087		B		
3.0 2.0	P2 E2 (800 ppm * pH 6,16)	3,3		B	C	
5.0 3.0	P4 E3 (1600 ppm * pH 5)	2,74			C	D
4.0 3.0	P3 E3 (1200 ppm * pH 5)	2,52			C	D
5.0 4.0	P4 E4 (1600 ppm * pH 4,63)	1,881				D
5.0 1.0	P4 E1 (1600 ppm * pH 7,54)	1,712				D

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

IV.1.2 – Analyse de variance pour la biomasse racinaire :

IV.1.2.1 – Tableau d'analyse de variance de la partie racinaire :

L'analyse statistique des données issues de l'analyse chimique des échantillons a été réalisée à l'aide du logiciel StatBox® ver6.0.

Tableau 32 : Résultat de l'analyse de variance de la biomasse racinaire.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.Totale	359,942	79	4,556				
Var.Facteur 1 ([Pb])	111,307	4	27,827	36,488	0		
Var.Facteur 2 (EDTA)	43,423	3	14,474	18,979	0		
Var.Inter F1*2	153,097	12	12,758	16,729	0		
Var.Blocs	8,645	3	2,882	3,779	0,01521		
Var.Résiduelle 1	43,47	57	0,763			0,873	29,91%

L'analyse de variance à deux facteurs de classification (Facteur 1 : taux d'extraction du plomb ; Facteur 2 : pH entraîné par l'ajout au sol d'EDTA) sur les racines de *Brassica napus* révèle une différence hautement significative de l'extraction du plomb par la partie racinaire de la plante, avec une fonction globale observée de 0.

Pour le facteur plomb, la fonction observée est de 0, ce qui traduit que l'augmentation de la concentration du plomb dans le sol entraîne une variabilité croissante très hautement significative de l'absorption du plomb par le système racinaire de la plante. Cela veut dire que plus il y a de plomb dans le substrat, plus les racines du colza absorbent ce métal.

De même pour le second facteur, la fonction observée étant 0, nous observons donc une différence très hautement significative dans l'absorption de l'élément métallique par la racine de la plante en fonction de la variabilité du pH du sol. Ce qui explique que l'acidification du sol permet une extraction de métal par les racines à des taux plus importants.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

L'interaction des deux facteurs fait également apparaître une différence très hautement significative quant à l'extraction du plomb par la plante. En d'autres termes, plus le sol est acide, plus le plomb est biodisponible pour le colza, et plus les racines du colza prélèvent ce métal à des doses très importantes.

IV.1.2.2 – Tests de comparaison des moyennes :

L'utilisation du test de Newman et Keuls au seuil de 5% pour l'analyse de la plus petite différence significative nous aide à comprendre à quel niveau se situent les différences révélées et nous permet aussi de hiérarchiser les niveaux les plus discriminants des deux facteurs étudiés.

IV.1.2.2.1 – Comparaison de moyennes pour le Facteur 1 (Facteur Plomb) :

Pour le facteur plomb (Tableau 33), le test de Newman-Keuls nous permet d'individualiser trois (03) groupes homogènes : A, B et C.

Tableau 33 : Comparaison des moyennes pour le Facteur 1 (Facteur [Pb]) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.

F1 ([Pb])	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
5.0	P4 (1600 ppm)	4,315	A		
4.0	P3 (1200 ppm)	4,171	A		
3.0	P2 (800 ppm)	2,858		B	
2.0	P1 (400 ppm)	1,842			C
1.0	P0 (0 ppm)	1,411			C

Le groupe homogène A renferme les deux plus grandes doses de plomb appliquées au sol ($P_3 = 1200$ ppm et $P_4 = 1600$ ppm), qui entraînent toutes les deux une absorption moyenne supérieure à 4 mg.L^{-1} . Cela veut dire qu'il n'y a aucune différence significative quant à l'absorption du plomb par les racines de *Brassica napus* sur un sol contenant une dose de plomb supérieure à 1200 ppm (dose P_3). Autrement dit, l'efficacité de la dépollution par les

racines du colza reste sensiblement identique lorsque l'on passe d'un sol pollué par le plomb à 1200 ou à 1600 ppm.

En passant d'un sol témoin ne contenant pas de plomb à un sol en contenant peu (jusqu'à $P_2 = 800$ ppm), l'absorption se fait graduellement en fonction de la dose de plomb initialement présente dans le sol.

IV.1.2.2.2 – Comparaison de moyennes pour le Facteur 2 (Facteur EDTA) :

Pour le second facteur (pH du sol induit par l'ajout d'EDTA), la comparaison des moyennes permet de dégager quatre groupes homogènes : les groupes A, B, BC et C (Tableau 31).

Tableau 34 : Comparaison des moyennes pour le Facteur 2 (Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seul = 5%.

F2 (EDTA)	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
2.0	E2 (pH 6,16)	4,118	A		
1.0	E1 (pH 7,54)	2,92		B	
4.0	E4 (pH 4,63)	2,407		B	C
3.0	E3 (pH 5)	2,232			C

Le groupe homogène A contient la dose d'EDTA permettant le meilleur taux d'absorption du plomb par le système racinaire de *Brassica napus* : il s'agit de la dose E₂ exprimant un pH de 6,16. Cela signifie que l'efficacité de la phytoextraction du plomb induite par l'EDTA dans le cas du colza, en considérant uniquement le système racinaire, a lieu sur notre sol avec un pH de 6,16.

L'analyse des autres groupes homogènes (B, BC et C) montre que l'acidification du sol en-deçà de pH 6,16 n'a aucun intérêt pour l'objet de cette étude ; l'utilisation du test de Newman-Keuls prouve que l'absorption du plomb par les racines du colza est meilleure à la dose E₁ (pH = 7,54) qu'aux doses E₄ (pH = 4,63) ou E₃ (pH = 5). Le taux d'absorption du

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

plomb par la plante diminue significativement lorsque l'acidification du milieu de culture se poursuit après l'adjonction d'une dose E₂ d'EDTA au sol.

IV.1.2.2.3 – Comparaison de moyennes pour l'interaction Facteur 1 * Facteur 2 (Facteur Plomb * Facteur EDTA) :

En ce qui concerne l'interaction des deux facteurs (Tableau 35), le test de comparaison des moyennes fait apparaître que le plus fort taux d'absorption du plomb par les racines du colza se fait en présence de la dose de plomb P₄ associée à la dose d'EDTA E₂.

Tableau 35 : Comparaison des moyennes pour l'interaction Facteur 1 * Facteur 2 (Facteur [Pb] * Facteur EDTA), test de Newman-Keuls, seuil = 5%.

F1 * F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
5.0 2.0	P4 E2	9,131	A			
4.0 1.0	P3 E1	6,011		B		
4.0 4.0	P3 E4	5,178		B	C	
3.0 2.0	P2 E2	5,003		B	C	
5.0 1.0	P4 E1	3,781			C	D
4.0 3.0	P3 E3	2,902				D
3.0 3.0	P2 E3	2,796				D
4.0 2.0	P3 E2	2,592				D
2.0 2.0	P1 E2	2,453				D
5.0 3.0	P4 E3	2,399				D
3.0 4.0	P2 E4	2,234				D
2.0 1.0	P1 E1	1,998				D
5.0 4.0	P4 E4	1,95				D

Notons que ce tableau met en évidence que l'absorption du plomb par la partie racinaire du colza est nettement plus importante (près de 5 fois supérieure) pour l'association des doses P₄E₂ que pour l'association P₄E₄. Cela veut dire qu'au-delà d'un certain seuil situé autour de pH 6, l'augmentation des doses d'EDTA sur un sol pollué par le plomb crée un certain antagonisme quant à l'extraction du plomb par les racines du colza.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

En somme, ce tableau des interactions entre les deux facteurs étudiés nous offre une masse d'informations intéressantes dont la plus importante est que l'efficacité de l'opération de phytoremédiation d'un sol pollué au plomb, si l'on ne considère que le système racinaire de *Brassica napus*, est atteinte sur un sol à pH 6,16 et renfermant une pollution en plomb de 1600 ppm.

IV.2 – Analyse de variance à trois critères de classification (Facteur 1 Organe de la plante, Facteur 2 Dose de plomb, Facteur 3 Dose d'EDTA) :

IV.2.1 – Tableau d'analyse de variance :

L'analyse statistique des données obtenues après l'analyse chimique des échantillons a été réalisée à l'aide du logiciel StatBox® ver6.0.

Tableau 36 : Résultat de l'analyse de variance à trois critères de classification.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Var.Totale	621,769	159	3,91				
Var.Facteur 1 (Organe)	76,406	1	76,406	120,721	0		
Var.Facteur 2 ([Pb])	170,497	4	42,624	67,345	0		
Var.Facteur 3 (EDTA)	74,949	3	24,983	39,473	0		
Var.Inter F1*2	4,648	4	1,162	1,836	0,12522		
Var.Inter F1*3	12,255	3	4,085	6,454	0,00051		
Var.Inter F2*3	87,364	12	7,28	11,503	0		
Var.Inter F1*2*3	116,347	12	9,696	15,319	0		
Var.Blocs	5,249	3	1,75	2,765	0,04434		
Var.Résiduelle 1	74,052	117	0,633			0,796	35,70%

L'analyse de variance réalisée à trois facteurs de classification (Tableau 36) concerne : le Facteur 1 (l'organe de la plante) à deux niveaux (Feuilles, Racines), le Facteur 2 (la concentration de plomb dans le sol) à cinq niveaux (P_0 , P_1 , P_2 , P_3 et P_4) et le Facteur 3 (la dose d'EDTA ajoutée au sol pour en faire varier le pH) à quatre niveaux (E_1 , E_2 , E_3 et E_4 respectivement pour pH = 7,54 ; pH = 6,16 ; pH = 5 et pH = 4,3).

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

Pour le Facteur 1, cette analyse de variance nous montre une fonction observée égale à 0. Ceci veut dire que la différence du taux d'absorption du plomb par la plante est très hautement significative suivant l'organe végétal considéré.

Pour le Facteur 2, nous avons également une fonction observée de 0, ce qui veut dire qu'il y a une différence très hautement significative dans les taux d'absorption du plomb par la plante, en fonction de la concentration initiale du métal dans le sol. En d'autres termes, plus le sol contient de plomb, plus l'extraction du métal par la plante est élevée.

De même pour le troisième facteur, nous observons une fonction égale à 0. Cela veut dire que l'acidification du milieu de culture influence grandement l'absorption du métal par la plante entière.

L'interaction des deux premiers facteurs (organe de la plante et concentration du polluant dans le sol) ne fait pas apparaître de différence significative dans les taux absorbés. Ceci signifie que l'absorption du plomb par les racines du colza et sa translocation vers la partie aérienne se fait de la même manière en fonction des doses de plomb dans le sol.

Concernant l'interaction entre le premier et le troisième facteur (organe de la plante et dose d'EDTA ajoutée au sol), nous pouvons constater une différence très hautement significative des taux d'absorption du plomb par la plante. Autrement dit, l'acidification du sol influence très fortement l'absorption du plomb par l'un ou l'autre des organes de la plante.

L'interaction entre la concentration du plomb dans le sol et le pH de ce dernier montre une différence d'absorption très hautement significative. Ce qui veut dire que plus le sol est acide, plus le métal qu'il contient est absorbé par la plante.

Quant à l'interaction entre les trois facteurs pris ensemble par cette analyse de variance, elle nous révèle une fonction observée égale à 0. Ceci implique une différence d'absorption du plomb par la plante entière très hautement significative. En d'autres termes, plus le sol est acide, plus le plomb est prompt à être absorbé, et plus les parties aérienne et racinaire de la plante l'extraient du sol.

IV.2.2 – Comparaisons de moyennes :

Le test de Newman et Keuls, test *post hoc* utilisé pour déterminer les différences significatives entre les moyennes des groupes dans une analyse de variance, nous permet de faire ressortir les différents groupes homogènes afin de mieux cerner les résultats par l'étude de la plus petite différence significative.

IV.2.2.1 – Comparaison de moyennes pour le Facteur 1 (Organe de la plante) :

L'application du test de comparaison des moyennes au Facteur 1 (Facteur Organe) nous permet de séparer les données en différents groupes homogènes.

Tableau 37 : Comparaison des moyennes pour le Facteur 1 (Facteur Organe de la plante) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.

F1 (Organe)	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
2.0	R	2,919	A	
1.0	F	1,537		B

En appliquant le test de Newman et Keuls, au seuil de 5%, aux deux organes de la plante considérés dans cette étude, nous pouvons observer que deux groupes homogènes se distinguent ; en effet, racines et feuilles constituent deux groupes différents ayant chacun une certaine capacité d'absorption du plomb présent dans le sol.

Le groupe A, ayant extrait le plus de plomb, correspond aux racines du colza. Le groupe B, très distinct du groupe A par la faible teneur d'extraction du plomb, correspond à la partie aérienne de la plante.

IV.2.2.2 – Comparaison de moyennes pour le Facteur 2 (Facteur Plomb) :

L'application du test de comparaison des moyennes au Facteur 2 (Facteur plomb) permet de dégager les différents groupes homogènes.

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

Tableau 38 : Comparaison des moyennes pour le Facteur 2 (Facteur [Pb]) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.

F2 ([Pb])	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
5.0	P ₄	3,46	A			
4.0	P ₃	3,238	A			
3.0	P ₂	2,286		B		
2.0	P ₁	1,343			C	
1.0	P ₀	0,813				D

Concernant le facteur plomb, nous avons ici le même résultat que lors de l'analyse de variance à deux facteurs, à savoir que les plus fortes doses de polluant ont entraîné les taux d'extraction les plus élevés.

IV.2.2.3 – Comparaison de moyennes pour le Facteur 3 (Facteur EDTA) :

L'application du test de comparaison des moyennes au Facteur 3 (Facteur EDTA) permet de faire ressortir les différents groupes homogènes.

Tableau 39 : Comparaison des moyennes pour le Facteur 3 (Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.

F3 (EDTA)	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
2.0	EDTA2	3,409	A	
3.0	EDTA3	1,92		B
1.0	EDTA1	1,828		B
4.0	EDTA4	1,755		B

L'application du test de Newman et Keuls permet ici de dégager deux groupes homogènes distincts concernant l'influence de l'ajout de l'EDTA au sol. Là encore, la seconde dose d'EDTA est celle qui permet un meilleur taux d'absorption du plomb par le colza ; elle est d'ailleurs la seule représentante du groupe homogène A. Nous pouvons remarquer que le taux moyen de plomb extrait par la plante entière est supérieur avec la première dose d'EDTA qu'avec la quatrième (la plus élevée). En d'autres termes, *Brassica*

napus, tout organe confondu, absorbe plus de plomb sur un sol à pH 7,54 que sur un sol à pH 4,63. Cela revient à dire que l'acidification à outrance d'un sol produit un effet contraire.

IV.2.2.4 – Comparaison de moyennes pour l'interaction

Facteur 1 * Facteur 3 (Facteur Organe * Facteur EDTA) :

L'application du test de comparaison des moyennes à l'interaction des Facteurs 1 et 3 (respectivement Facteur Organe et Facteur EDTA) sert à révéler les différents groupes homogènes.

Tableau 40 : Comparaison des moyennes pour l'interaction Facteur 1 * Facteur 3 (Facteur Organe * Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.

F1 F3	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES				
2.0 2.0	R * E ₂	4,118	A				
2.0 1.0	R * E ₁	2,92		B			
1.0 2.0	F * E ₂	2,701		B	C		
2.0 4.0	R * E ₄	2,407		B	C		
2.0 3.0	R * E ₃	2,232			C		
1.0 3.0	F * E ₃	1,609				D	
1.0 4.0	F * E ₄	1,102					E
1.0 1.0	F * E ₁	0,737					E

L'analyse de la plus petite différence significative par l'utilisation du test de Newman-Keuls nous permet de comprendre à quel niveau se situent la ou les différences observées. Appliqué à l'interaction du Facteur 1 (organe de la plante) et du Facteur 3 (EDTA), il permet de dégager plusieurs groupes homogènes distincts.

Le Tableau 40 nous montre que le groupe homogène ayant réalisé le plus haut taux d'extraction du plomb (le groupe A) est celui contenant l'interaction « Racines * E₂ ». En d'autres termes, le système racinaire de *Brassica napus* ayant poussé sur un sol de pH 6,16 est l'organe qui a le plus absorbé de plomb. Ce tableau met aussi en évidence que les groupes homogènes ayant connu les plus forts taux d'absorption sont principalement composés des

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

racines. Cette dernière conclusion rejoint en effet celle tirée de l'analyse de variance à deux facteurs de classification et de la comparaison de moyennes qui en a découlé.

IV.2.2.5 – Comparaison des moyennes pour l'interaction

Facteur 2 * Facteur 3 (Facteur [Pb] * Facteur EDTA) :

L'application du test de comparaison des moyennes à l'interaction des Facteurs 2 et 3 (respectivement Facteur [Pb] * Facteur EDTA) permet de mettre en évidence les différents groupes homogènes.

Tableau 41 : Comparaison des moyennes pour l'interaction Facteur 2 * Facteur 3 (Facteur [Pb] * Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil = 5%.

F2 F3	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
5.0 2.0	P ₄ * E ₂	6,609	A			
3.0 2.0	P ₂ * E ₂	4,151		B		
4.0 2.0	P ₃ * E ₂	4,007		B		
4.0 1.0	P ₃ * E ₁	3,321		B	C	
4.0 4.0	P ₃ * E ₄	2,915			C	D
5.0 1.0	P ₄ * E ₁	2,747			C	D
4.0 3.0	P ₃ * E ₃	2,711			C	D
5.0 3.0	P ₄ * E ₃	2,57			C	D
3.0 3.0	P ₂ * E ₃	2,246			C	D
5.0 4.0	P ₄ * E ₄	1,915				D

Appliquer le test de Newman et Keuls à l'interaction des Facteurs 2 et 3 permet de faire ressortir de nombreux groupes homogènes réunissant les objets en fonction des doses de plombs et d'EDTA appliquées.

Le premier groupe (groupe A) est celui qui a le plus extrait de plomb ; il est constitué du seul objet noté P₄E₂, c'est-à-dire le pot ayant contenu 1600 ppm de plomb dans un sol à pH 6,16. A la sixième et à la dixième position, nous avons respectivement les unités notées P₄E₁ et P₄E₄. Le Tableau 36, réunissant à la fois les parties aérienne et racinaire dans les résultats, confirme que l'acidification du sol au-delà de pH 6,16 permet une extraction de plomb bien

Chapitre V : Analyse et discussion des résultats

inférieure que celle obtenue sans acidification du sol. Autrement dit, nous observons une nouvelle fois que l'optimum d'extraction est réalisé à pH 6,16.

IV.2.2.6 – Comparaison de moyennes pour l'interaction des trois facteurs de classification

L'application du test de comparaison des moyennes à l'interaction des trois facteurs considérés lors de l'analyse de variance à trois niveaux de classification (interaction Facteur Organe* Facteur Plomb * Facteur EDTA) permet la mise en évidence de différents groupes homogènes regroupés selon les taux de plomb absorbés, la dose d'EDTA associée à cette absorption ainsi que l'organe végétal ayant réalisé ces absorptions.

Tableau 42 : Comparaison des moyennes pour l'interaction des trois facteurs (Facteur Organe * Facteur [Pb] * Facteur EDTA) : test de Newman-Keuls, seuil 5%.

F1 * F2 * F3	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES						
2.0 5.0 2.0	R * P ₄ * E ₂	9,131	A						
2.0 4.0 1.0	R * P ₃ * E ₁	6,011		B					
1.0 4.0 2.0	F * P ₃ * E ₂	5,423		B	C				
2.0 4.0 4.0	R * P ₃ * E ₄	5,178		B	C	D			
2.0 3.0 2.0	R * P ₂ * E ₂	5,003		B	C	D			
1.0 5.0 2.0	F * P ₄ * E ₂	4,087			C	D	E		
2.0 5.0 1.0	R * P ₄ * E ₁	3,781				D	E	F	
1.0 3.0 2.0	F * P ₂ * E ₂	3,3					E	F	G
2.0 4.0 3.0	R * P ₃ * E ₃	2,902					E	F	G
1.0 5.0 3.0	F * P ₄ * E ₃	2,74					E	F	G
2.0 4.0 2.0	R * P ₃ * E ₂	2,592					E	F	G
1.0 4.0 3.0	F * P ₃ * E ₃	2,52					E	F	G
2.0 2.0 2.0	R * P ₁ * E ₂	2,453					E	F	G
2.0 5.0 3.0	R * P ₄ * E ₃	2,399					E	F	G
2.0 3.0 4.0	R * P ₂ * E ₄	2,234						F	G
2.0 2.0 1.0	R * P ₁ * E ₁	1,998						F	G
2.0 5.0 4.0	R * P ₄ * E ₄	1,95						F	G
1.0 5.0 4.0	F * P ₄ * E ₄	1,881						F	G

L'application du test de Newman-Keuls à l'interaction des trois facteurs considérés (Organe, Concentration du sol en plomb, et pH du sol dû à son acidification par l'ajout de chélateur) permet de faire ressortir de très nombreux groupes homogènes dont seule une partie est représentée ici.

Le Tableau 42 montre que le plus fort taux d'absorption du métal est réalisé par la racine en contact de la dose P₄ de plomb en association avec la dose E₂. Il montre aussi que pour la partie aérienne du colza, le plus fort taux d'extraction a eu lieu en présence de l'association des doses P₃ de plomb et E₂ d'EDTA. Nous constatons également que pour l'association P₄E₄, quel que soit l'organe considéré, les taux d'absorption du plomb sont nettement inférieurs.

Le Tableau 42 montrant l'interaction des trois facteurs nous fournit une foule d'informations très pertinentes. La plus notable est, encore une fois, que le pH optimal pour l'extraction du plomb par la plante, quel que soit l'organe considéré, est situé autour de 6,16. Notons également que pour une forte concentration en plomb dans le sol (P₄ = 1600 mg.kg⁻¹), l'acidification de ce dernier entraîne une absorption plus faible que pour la même dose de plomb sur un sol non acidifié (pH = 7,54).

V – Discussion :

A la lumière de nos résultats, nous constatons que les racines du colza absorbent de grandes quantités de plomb en fonction du taux de concentration de cet élément dans le sol. A partir de la dose P₃ (1200 mg.kg⁻¹), les racines commencent à restreindre l'absorption du plomb, ce qui explique que même si la dose de plomb dépasse 1200 ppm pour atteindre la dose P₄ de 1600 ppm, les quantités absorbées par les racines resteront presque les mêmes qu'avec la dose P₃. Ce résultat rejoint ceux de Sharma et Dubey (2005) et de Cecchi (2008) qui s'accordent à dire que les couches supérieures du cortex racinaire (rhizoderme et collenchyme) constituent une barrière physique contre la pénétration du plomb dans les racines et que les mécanismes par lesquels ce métal arrive à pénétrer dans les racines ne sont pas encore totalement élucidés. Ils ajoutent également que le plomb peut se lier aux groupements carboxyles des acides uroniques composant le mucilage racinaire et que cette fixation en surface permet de restreindre le passage du plomb à l'intérieur de la racine.

En l'absence de chélateur tel que l'EDTA, le transfert du plomb vers les racines commence à chuter dès que la dose de 800 ppm est dépassée, ce qui montre que le colza réagit à l'élévation des quantités de plomb présent dans le sol jusqu'à une certaine concentration. C'est en fonction de l'augmentation des concentrations du plomb dans le sol que le transfert commence à reprendre et à augmenter suivant la voie active. Ces résultats confirment ceux obtenus par Hamroun et Hamitouche (2011).

L'ajout d'EDTA au sol, à diverses doses, fait apparaître de grandes différences dans l'absorption du plomb par les racines comparativement à son absorption sans EDTA. Ceci confirme, encore une fois, les résultats obtenus par Hamroun et Hamitouche (2011) qui concluent leur travail en disant que « la présence d'EDTA fait augmenter le transfert du plomb du sol vers les racines plus qu'en son absence ». Les résultats de l'analyse statistique de nos données font ressortir que l'absorption du plomb par les racines atteint son maximum à la dose P₄ (1600 ppm) de plomb associée à une dose E₂ d'EDTA incorporée au sol (pH = 6,16). Si l'on augmente l'acidification du sol en lui incorporant des doses supérieures à E₂ (E₃ et E₄ pour des pH respectifs de 5 et de 4,63), il se produit alors une absorption minimale : la racine réduit donc son absorption par rapport à cet élément. Nos résultats rejoignent ceux de Gerriste et Van Driel (1984) qui ont pu démontrer l'existence de relations linéaires entre la

constante d'absorption du plomb par les racines et le pH du sol. Pour Luo *et al.* (2006), l'ajout d'EDTA permet une augmentation de l'accumulation du plomb dans la partie racinaire. Selon Huang et Cunningham (1996) et Huang *et al.* (1997), une très grande majorité du plomb restera dans la racine.

En outre, notre travail fait ressortir une accumulation du plomb beaucoup plus réduite dans la partie aérienne du colza que dans sa partie racinaire. L'accumulation maximale du métal étudié dans la partie aérienne s'opère à la dose de 1200 ppm de plomb dans le sol associée à la dose E₂ d'EDTA (pH = 6,16), ce qui signifie que l'ajout du chélateur (EDTA) a grandement contribué à la translocation du plomb vers la partie aérienne. Ceci rejoint d'ailleurs les résultats des travaux conduits par Huang et Cunningham (1996) et Salt *et al.* (1998) qui expliquent que lors de l'ajout du chélateur (présentement de l'EDTA) dans un site contaminé par le plomb, ce dernier est absorbé et migre vers la partie aérienne où il s'accumule sous forme de complexe « Pb-EDTA ». L'ajout d'EDTA permet surtout une augmentation de l'accumulation de plomb dans la partie racinaire plutôt que dans la partie aérienne (Luo *et al.*, 2006), ce qui explique bien les différences d'accumulation de plomb entre les racines et la partie aérienne du colza que nous avons expérimenté. D'après Huang et Cunningham (1996), la présence de teneurs élevées en EDTA dans les tissus de la plante pourrait augmenter la concentration du plomb soluble par la formation du complexe « Pb-EDTA » et favoriser ainsi sa migration vers la partie aérienne où il s'accumule.

Concernant les rapports de transfert du plomb depuis le sol vers la biomasse racinaire du colza (ou coefficients d'extraction), en considérant la matière végétale séchée et l'organe souterrain isolé, nous observons des rapports allant de 0,061 à 0,313. Nos résultats concordent avec ceux de Zheng *et al.* (2007) qui, en travaillant sur le haricot rouge ayant poussé sur un sol renfermant une teneur en plomb moyenne de 320 mg.kg⁻¹, ont retrouvé des coefficients d'extraction moyens de 0,265 dans les racines. Dans notre sol renfermant une dose de plomb proche de celle de ces chercheurs (P₁ = 400 mg.kg⁻¹), nous avons trouvé (à pH = 7,54) un rapport de transfert moyen de 0,25 ; en prenant en compte les moyennes issues des quatre niveaux de pH (allant de 7,54 à 4,63) pour cette même dose de plomb (400 ppm), nous obtenons un coefficient d'extraction moyen de 0,23. Ce qui est très proche des résultats obtenus par Zheng *et al.* en 2007 pour les racines des haricots rouges.

Yanqun *et al.* (2001) ont eux trouvé une teneur moyenne en plomb de $133,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ en étudiant les plantes endémiques croissant dans les zones minières chinoises sur un sol renfermant en moyenne $1630 \text{ mg Pb.kg}^{-1}$. En faisant leurs calculs sur la plante entière séchée, ils ont ainsi obtenu un coefficient d'extraction moyen de 0,08. Le coefficient d'extraction moyen du colza que nous avons étudié, sur notre sol pollué par le plomb à une concentration de 1600 mg.kg^{-1} , est presque deux fois supérieur : il est en effet de 0,135. Cette différence pourrait être due à la biomasse relativement élevée du colza, comparée à la faible biomasse des plantes sauvages (Al-Shehbaz *et al.*, 2006).

Fytianos *et al.* (2001) ont fait les mêmes calculs, en Grèce, après avoir étudié le transfert de métaux lourds du sol vers quelques plantes à large consommation humaine, et arrivent à des facteurs de transfert des polluants métalliques du sol vers les plantes allant de 0,07 (pour la carotte) à 0,46 (pour les épinards). Pareillement, Cecchi *et al.* (2008) ont trouvé des coefficients d'extraction allant de 0,04 à 0,46 en étudiant l'effet du plomb sur les fèves et les tomates. Les résultats de notre étude expérimentale confirment les résultats obtenus par tous ces différents chercheurs travaillant sur différentes espèces végétales en présence d'une gamme de niveaux de pollution aussi large que la notre.

Après l'absorption par les racines, la translocation du métal correspond à son transport par le xylème vers la partie aérienne de la plante. Nous trouvons un facteur de translocation moyen (toutes doses de plomb et d'EDTA confondues) de 0,655, ce qui veut dire que les tiges et les feuilles du colza que nous avons étudié contiennent 65,5 % du métal contenu dans les racines. Ce rapport est au minimum de 54,34 % (pour la dose de plomb $P_1 = 400 \text{ mg.kg}^{-1}$) et au maximum de 79,83 % (pour la dose de plomb $P_3 = 1200 \text{ ppm}$), lorsque nous faisons les calculs tous pH confondus. Ces facteurs de translocation moyens concordent avec ceux retrouvés dans la littérature : Del Rio-Celestino *et al.* (2006) ont trouvé un rapport de translocation moyen compris entre 0 et 0,7 dans des plantes sauvages ayant poussé sur un sol artificiellement contaminé avec $500 \text{ mg Pb.kg}^{-1}$, de même que Yoon *et al.* (2006) ont trouvé des facteurs de translocation (selon Cecchi (2008), assez faibles) avec une valeur moyenne de 0,58.

Contrairement aux conclusions des études réalisées par Chaignon et Hinsinger (2003) sur l'absorption du cuivre par la tomate, à celle réalisées par Dudka *et al.* (1996), Wang *et al.*

(2006) et Zheng *et al.* (2007) sur plusieurs métaux, ou encore à celles réalisées par Cecchi *et al.* (2008) sur l'absorption du plomb par la fève et la tomate, nous ne pouvons dire que le rapport de translocation diminue avec l'augmentation de la pollution du sol.

En effet, en considérant les facteurs de translocation à pH neutre (pH des études précédemment citées) et donc en l'absence d'agent chélateur externe, nous notons que nos résultats concordent avec ceux des auteurs de ces études jusqu'à la dose P₃ de plomb ajoutée au sol (1200 mg.kg⁻¹) : les facteurs de translocation baissent effectivement avec l'augmentation de la pollution (entre P₁ = 400 ppm et P₃ = 1200 ppm). Ce facteur est de 0,403 à la dose P₁ (400 ppm), 0,229 à la dose P₂ (800 ppm) et 0,105 à la dose P₃ (1200 ppm). Cependant, sur notre sol pollué à la dose P₄ (1600 ppm), le facteur de translocation augmente grandement : il est de 0,453.

En revanche, lorsque nous calculons les facteurs de translocation moyens pour chaque dose de plomb ajoutée au sol, tous pH confondus, nos résultats s'écartent considérablement de ceux obtenus par les auteurs sus-cités : les rapports de translocation moyens augmentent jusqu'à la dose P₃ (1200 ppm) puis baisse légèrement à la dose P₄ (1600 ppm) ; ils sont en effet de 0,523 (pour P₁), 0,546 (pour P₂), 0,798 (pour P₃) et 0,752 (pour P₄).

La baisse des facteurs de translocation liée à la hausse de la concentration en plomb dans le sol généralement observée à travers les recherches réalisées serait due, selon Cecchi (2008), à la saturation des sites d'adsorption du métal sur les racines et indiquerait le développement par les plantes d'un certain degré de tolérance à la toxicité du métal. De plus, nous savons grâce à Patra *et al.* (2004) que les plantes sont capables de restreindre l'absorption de métaux par le biais de la séquestration par les phytochélatines qu'elles synthétisent lors d'un stress métallique, ou par l'accumulation des métaux dans certains compartiments cellulaires comme les vacuoles. L'évolution de nos rapports de translocation pourrait alors être expliquée : par la génétique de la plante étudiée (les *Brassicaceae* étant réputées tolérantes ou hyperaccumulatrices selon plusieurs auteurs), par un flux important de plomb adsorbé aux racines pénétrant dans les cellules de celles-ci, (flux probablement causé par une saturation en plomb biodisponible dans la rhizosphère due à la présence d'EDTA), ou encore par un défaut de synthèse de protéines protectrices (telles que les phytohélatines ou les métallothionéines) comme cela a déjà été suggéré par Remon (2006) lors de ses travaux de

recherche présentés dans le cadre de sa thèse de doctorat sur la tolérance et l'accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques.

Selon Kumar *et al.* (1995), les espèces du genre *Brassicca* piègent 75 à 80 % du plomb dans leurs racines. Les résultats de notre étude montrent que dans 87,5 % des cas (14 relevés sur 16), le plomb est séquestré en majorité dans la biomasse racinaire de *Brassica napus*. Yoon *et al.* (2006), dans leur étude des concentrations en métaux dans des plantes natives sur un site contaminé, ont montré que dans 95 % des cas, les concentrations en plomb dans les racines étaient beaucoup plus élevées que dans les feuilles ; ceci, pour les auteurs, souligne une faible mobilité du plomb et indique que les plantes séquestrent ce métal dans les parties racinaires et limitent ainsi le transport interne, des racines vers les parties aériennes.

Pour Verkleij (1990), cette restriction du transport du plomb des parties racinaires vers les parties aériennes représente un facteur important de tolérance des plantes vis-à-vis du métal. Kim *et al.* (2003) ajoutent qu'il est important que le moins de plomb possible soit transloqué car il s'agit d'un élément toxique ayant des effets néfastes notamment sur l'activité photosynthétique des plantes et la synthèse de chlorophylle et d'enzymes anti-oxydantes. Ceci n'est cependant pas vrai pour les espèces hyperaccumulatrices qui ont la capacité de transloquer une grande quantité de plomb vers les parties aériennes (Seregin et Ivanov, 2001).

Pour Baker (1981), si le facteur de translocation est environ égal à 1 (c'est-à-dire que les parties aériennes contiennent environ la même quantité de plomb que les parties racinaires), nous sommes face à une plante qui agit indifféremment vis-à-vis de l'élément métallique en présence (plante tolérante) ; si ce facteur est supérieur à 1 (si le facteur de translocation est supérieur à 100 %), il s'agit d'une plante accumulatrice, et si le facteur de translocation est nettement supérieur à 1, la plante est hyperaccumulatrice du métal avec lequel elle est en contact.

Or, à en croire les résultats de notre étude, notre colza agirait indifféremment face au plomb lorsqu'il pousse sur un sol très acide (pH = 4,63) contenant 400 ppm ou 1600 ppm de plomb (facteurs de translocation respectivement de 96,54 % et 96,45 %). Le colza étudié serait une espèce accumulatrice lorsqu'il pousse sur un sol à pH 5 contenant 1600 mg Pb.kg⁻¹ (nous retrouvons un facteur de translocation de 114,2 %), alors que cette même espèce serait

hyperaccumulatrice en poussant sur un sol à pH 6,16 pollué par le plomb à la concentration de 1200 ppm (facteur de translocation de 209,2 %).

Les résultats de notre étude nous permettraient alors de définir une dose efficace de dépollution par le colza : il s'agirait de l'association P_3E_2 (1200 mg Pb.kg⁻¹ sol, à pH 6,16).

CONCLUSION GENERALE

Cette modeste étude vient renforcer le panel des travaux concernant la réhabilitation des écosystèmes perturbés de manière générale, et des sols contaminés par les métaux lourds en particulier, qui se sont succédé au fil des années ces dernières décennies. Ce travail portait donc sur l'étude de la capacité du colza à extraire le plomb présent dans le sol et avait aussi pour but d'évaluer l'effet de l'acidification de ce dernier sur les taux d'absorption du métal par la plante. Bien que d'application délicate, l'approche expérimentale choisie pour mener à bien cette étude ainsi que le protocole d'expérimentation conçu par nos soins se sont révélés fort efficaces pour répondre à la problématique à la base de ce sujet.

Notre recherche a prouvé la capacité du colza à extraire et accumuler du plomb dans ses différents organes et a ainsi confirmé les travaux d'autres chercheurs qui ont travaillé sur diverses espèces végétales (la tomate, la fève, l'oignon, l'ail, la laitue pour ne citer que celles-ci) et divers polluants métalliques. Nous avons également pu prouver que bien que la grande majorité du plomb restait dans les organes souterrains du colza, une partie de ce métal était néanmoins transférée vers les organes aériens de la plante. De même, nous avons montré que les taux de plomb absorbés étaient, d'une part, dépendants de la concentration de ce métal dans le sol, et d'autre part liés au pH de ce même sol. En effet, nous avons démontré que les taux d'absorption avaient tendance à stagner lorsque la concentration du plomb dans le sol dépassait les 1200 ppm. En outre, nous avons prouvé que l'extraction de l'élément métallique étudié était amplifiée lorsque le colza poussait sur un sol acidifié à $\text{pH} = 6,16$. De plus, cette étude a montré que ce même pH de 6,16 permettait une forte translocation du métal vers la partie aérienne du colza, les taux transférés vers la biomasse aérienne allant même jusqu'à être supérieurs à ceux contenus dans la partie racinaire de la plante et ce, quelle que soit la concentration initiale de plomb dans le sol.

Cette étude, bien que prometteuse, nous semble cependant incomplète et soulève de nouvelles interrogations. Concernant les taux de plomb contenus dans les racines du colza, quelle partie est adsorbée aux parois cellulaires et quelle portion est réellement absorbée par les cellules ? Où sont séquestrés les ions métalliques absorbés par la plante entière ? Quels mécanismes commandent et régulent la pénétration des ions métalliques dans les cellules ainsi que leur translocation de la biomasse racinaire vers la biomasse aérienne ? Si le temps de culture était plus long et que nos plants de colza étaient arrivés au stade fruits, ceux-ci auraient-ils contenu du plomb ? Si oui, à quelle proportion ? Qu'en est-il d'un essai de

phytoremédiation impliquant plusieurs espèces réputées accumulatrices ou hyperaccumulatrices dans la littérature ; y a-t-il effet de synergie ou, à contrario, un antagonisme entre ces différents individus de différentes espèces ? Qu'en est-il également de la dépollution des sites et sols contaminés tels qu'ils le sont réellement sur le terrain ou, autrement dit, comment les plantes se comportent-elles dans une situation de pollution multi-métallique ? Il semble important de réaliser des tests *in situ* pour répondre à certaines de ces interrogations.

La phytoremédiation est une technique naissante qui mûrit au fil des expériences ; son application grandeur nature pourrait être salvatrice et est primordiale pour son évolution. En effet, les techniques biologiques de dépollution laissent un sol plus sain et biologiquement actif, contrairement aux techniques physiques et chimiques qui laissent un sol vide de vie. Il pourrait être envisagé, dans un futur proche, de tenter des expérimentations en plein champ pour essayer d'endiguer les pollutions à venir ou de remédier aux pollutions déjà présentes sur le territoire national. Une coopération scientifique entre les universités et les pôles de recherche à travers tous les pays riverains du bassin méditerranéen pourrait permettre une avancée fulgurante dans le domaine de la dépollution des sites et sols contaminés et permettre ainsi la préservation de notre bien commun, la mer Méditerranée et l'ensemble de la vie qu'elle renferme.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adriano, D. C. (2001).** Trace elements in terrestrial environments : Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of metals. Springer-Verlag 2nd Edition, New-York, USA. 866 p.
- Agence De l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie – ADEME (2006).** Bilan du recyclage 1996-2005 – Partie 1 : Synthèse générale et analyse par filière. *Rapport final*.
- Agence Française de NORmalisation – AFNOR, (1994).** Norme NFP 94-074 du 12 décembre 1994. Sols : reconnaissance et essais. *Essais à l'appareil triaxial de révolution. Appareillage, Préparation des éprouvettes et Essais (UU), (CU + u) et (CD)*.
- Allender, C. J., & King, G. J. (2010).** Origins of the amphiploid species *Brassica napus* L. investigated by chloroplast and nuclear molecular markers. *BMC Plant Biology*, 10 (1) : 54.
- Al-Shehbaz, I. A. (1973).** The biosystematics of the genus *Thelypodium* (Cruciferae). *Contribution from the Gray Herbarium of Harvard University*, 204 : 3 – 148.
- Al-Shehbaz, I. A. (1984).** The tribes of Cruciferae (Brassicaceae) in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 65 : 343 – 373.
- Al-Shehbaz, I. A. (1986).** The genera of *Lepideae* (Cruciferae : Brassicaceae) in the southeastern United States. *J Arnold Arbor*, 67 : 265 – 311.
- Al-Shehbaz, I. A., Beilstein, M. A., Kellogg, E. A. (2006).** Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae) : an overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259 : 89 – 120.
- Angelini, L. G., Lazzeri, L., Galletti, S., Cozzani, A. L., Macchia, M., & Palmieri, S. (1998).** Antigerminative activity of three glucosinolate derived products generated by myrosinase hydrolysis. *Seed Science and Technology*, 26 (3) : 771 – 780.

- Appel, O., Al-Shehbaz, I. A. (2003).** Cruciferae. In: Kubitzki K. (ed) *Families and genera of vascular plants*. Springer, Berlin, pp 75 – 174.
- Ariès, S. (2001).** Mise en évidence de contaminations métalliques historiques à partir de l'étude d'enregistrements sédimentaires de lacs de haute montagne. *Thèse de doctorat en Géochimie de Surface, Université de Toulouse III*. 276 p.
- Aubert, G., & Boulaine, J. (1980).** La pédologie. *Editions des Presses Universitaires de France, Collection Que sais-je n° 352*, Paris. 127 p.
- Baarmann, J. (1882).** Abhandlung über das Licht von Ibn al-Haitam. *Zeitschrift der Deutschen Morgenländischen Gesellschaft*, 36(2) : 195 – 237.
- Babich, H., & Stotzky, G. (1979).** Abiotic factors affecting the toxicity of lead to fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 38 (3) : 506 – 513.
- Babich, H., Stotzky, G., & Ehrlich, H. L. (1980).** Environmental factors that influence the toxicity of heavy metal and gaseous pollutants to microorganisms. *CRC Press, Critical Reviews in Microbiology*, 8 (2) : 99 – 145.
- Baize, D. (1997).** Teneurs totales en Eléments Traces Métalliques dans les sols français : premiers résultats du programme ASPITET ; Références et Stratégies d'Interprétation. *Courrier de l'Environnement de l'INRA N°22, Unité Science du Sol. INRA Editions*, Paris, France. 408 p.
- Baker, A. (1981).** Accumulators and excluders : Strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3 : 643 – 654.
- Baker, A. J. M., & Brooks, R. R. (1989).** Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements : A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1 : 81 – 126.
- Baker, A. J. M., & Walker, P. L. (1989).** Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. *Journal of Chemical Speciation and Bioavailability*, 1 (1) : 7 – 77.

- Baker, A. J. M., & Walker, P. L. (1990).** Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In : *Heavy metal tolerance in plants - Evolutionary aspects*. Shaw, A. J. Editions. CRC Press, Boca Raton : 155 – 177.
- Baker, A. J. M., McGrath, S. P., Reeves, R. D., Smith, J. A. C. (1999).** Metal hyperaccumulator plants : a review of ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal polluted soils. *Edition Terry N. and Banuelos G. Lewis Publishers Boca Raton, London, New York, Washington* : 85 - 107.
- Baker, H. G., & Baker, I. (1977).** Intraspecific constancy of floral nectar amino acid complements. *Botanical Gazette*, 138 (2) : 183 – 191.
- Barber, S. A. (1984).** Liming materials and practices. *Soil acidity and liming* : 171 – 209.
- Barber, S. A. (1995).** Soil nutrient bioavailability : a mechanistic approach. *John Wiley & Sons, 1st edition, New-York*.
- Bargagli, R. (1998).** Trace elements in terrestrial plants : an ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. *Springer-Verlag, Berlin*. 324 p.
- Ben Ghnaya, A., Charles, G., Hamida, J. B., & Branchard, M. (2006).** Phytoremédiation : apport de la sélection *in vitro* pour l'obtention de Colza (*Brassica napus* L.) tolérant aux métaux toxiques. *Geo-Eco-Trop*, 30 : 69 – 86.
- Blaylock, M. J. , & Huang, W. (2000).** Phytoextraction of metals. In : *Raskin, I., & Ensley, B. D. (Eds.), Phytoremediation of toxic metals : Using plants to clean up the environment, New-York, Jonh Wiley & Sons* : 53 – 69.
- Blaylock, M. J., Salt, D. E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gushsman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B. D., & Raskin, I. (1997).** Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Science and Technology*, 31, 860 – 865.
- Bohlen, J. P. (2002).** Earthworms. *Encyclopedia of Soil Science* : 370-373.

- Bourrelier, P. H., & Berthelin, J. (1998).** Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion. *Académie des sciences – Technique et documentation, Rapport n°42, TEC & DOC, Editions Lavoisier.* 440 p.
- Brooks, R. R., Lee, J., Reeves, R. D., & Jaffré, T. (1977).** Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *Journal of Geochemical Explorations*, 7 : 49–57.
- Brun, L. A., Maillet, J., Richarte, J., Herrmann, P. & Remy, J. C. (1998).** Relationship between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environmental Pollution*, 102 : 151 – 161.
- Bureau de Recherches Géologiques et Minières – BRGM (2004).** Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. *Rapport final, BRGM/RP-52881-FR.*
- Cakmak, I., Sari, N., Marschner, H., Ekiz, H., Kalayci, M., (1996).** Phytosiderophore release in bread and durum wheat genotypes differing in zinc efficiency. *Plant Soil*, 180 : 183 – 189.
- Calvet, R. (2003).** Le sol : propriétés et fonctions – Tome 2 : Phénomènes physiques et chimiques, applications agronomiques et environnementales. *France Agriculture Editions* : 38 – 44. 511 p.
- Cataldo, D. A., Wildung, R. E., & Garland, T. R. (1987).** Speciation of trace inorganic contaminants in plants, and bioavailability to animals : an overview. *Journal of Environmental Quality*, 16 (4) : 289 – 295.
- 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. École doctorale : Sciences écologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries ; Spécialité : Agrosystèmes, Ecosystèmes et Environnement.* Institut National Polytechnique de Toulouse. 226 p.

- Cecchi, M., Dumat, C., Alric, A., Felix-Faure, B., Pradère, P. & Guiresse, M. (2008).** Multi-metal contamination of a calcic cambisol by fallout from a lead-recycling plant. *Geoderma* : in press.
- Chaignon, V. & Hinsinger, P. (2003).** A biotest for evaluating copper bioavailability to plants in a contaminated Soil. *Journal of Environmental Quality*, 32 : 824 – 833.
- Chaignon, V. (2001).** Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. *Thèse de doctorat. École doctorale : Sciences de l'Environnement ; Spécialité : Système Terre*. Université d'Aix-Marseille. 246 p.
- Chaney, R. L., Malik, M., Li, M. Y., Brown, E. P., Brewer, S. L., Angle, J. S., & Baker, A. J. M. (1997).** Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology*, 8 : 279 – 284.
- Christensen, T. H. (1984).** Cadmium soil sorption at low concentration : Effect of time, cadmium load, pH and calcium. *Water, Air, Soil, Pollution*, 21 : 105 – 114.
- Chumbley, C.G. & Unwin, R. J. (2004).** Cadmium and lead content of vegetables crops grown on land with an history of sewage sludge application. *Environmental Pollution (Series B)*, 4 : 231 – 237.
- Clauss, M. J., Dietel, S., Schubert, G., & Mitchell-Olds, T. (2006).** Glucosinolate and trichome defenses in a natural *Arabidopsis lyrata* population. *Journal of Chemical Ecology*, 32 : 2351 – 2373.
- Cooper, E. M., Sims, J. T., Cunningham, S. D., Huang, J. W., & Berti, W. R. (1999).** Chelate-assisted phytoextraction of lead from contaminated soils. *Journal of Environmental Quality* 28 : 1709 – 1719.
- Cui, Y.-J., Zhu, Y.-G., Zhai, R.-H., Chen, D.-Y., Huang, Y.-Z., Qiu, Y. & Liang, J.-Z. (2004).** Transfer of metals from soil to vegetables in an area near a smelter in Nanning, China. *Environment International*, 30 : 785 – 791.

- Cunningham, S. D., & Ow, D. W. (1996).** Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*, 110 : 715 – 719.
- Cunningham, S. D., Anderson, T. A., Schwab, A. P., & Hsu, F. C. (1996).** Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advances in Agronomy*, 56 : 55 – 114.
- Cunningham, S. D., Berti, W. R., & Huang, J. W. (1995).** Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology*, 13 : 393 – 397.
- Dagnelie, P. (1981).** Principes d'expérimentation. *Les Presses Agronomiques de Gembloux*, Belgique. 362 p.
- Dalenberg, J. W., & Van Driel, W. (1990).** Contribution of atmospheric deposition to heavy-metal concentrations in field crops. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 38 : 369 – 379.
- Davis, A. R., Pylatuik, J. D., Paradis, J. C., & Low, N. H. (1998).** Nectar-carbohydrate production and composition vary in relation to nectary anatomy and location within individual flowers of several species of Brassicaceae. *Planta*, 205 : 305 – 318.
- De Haan, F. A. M., & Visser-Reyneveld, M. I. (1996).** Soil quality evaluation : Soil pollution and soil protection. *International Training Center PHLO*, Agricultural University Wageningen, Purdue University Press : 81 – 116.
- Dechaine, J., Ruan, H. H., Leon, Y. S. D., & Zou, X. M. (2005).** Correlation between earthworms and plant litter decomposition in a tropical wet forest of Puerto Rico. *Pedobiologia*, 49 : 601 – 607.
- Del Rio-Celestino, M., Font, R., Moreno-Rojas, R. & De Haro-Bailon, A. (2006).** Uptake of lead and zinc by wild plants growing on contaminated soils. *Industrial Crops and Products*, 24 (3) : 230 – 237.

- Delmail, D. (2014).** Bioindication végétale et phytoremédiation en rivières : comment traiter l'exposition aux contaminants en milieu courants ? *Bulletin de Veille Scientifique – Santé / Environnement / Travail*, 26 : 38 – 41.
- Demolon, A. (1932).** La dynamique des sols. *Principes d'agronomie Volume 1*. Editions Dunod, Paris, France. 414 p.
- Deneux-Mustin, S., Roussel-Debet, S., Mustin, C., Henner, P., Munier-Lamy, C., Colle, C., Berthelin, J., Garnier-Laplace, J., Leyval, C. (2003).** Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces : influence des micro-organismes du sol. *TEC & DOC, Editions Lavoisier*, Paris.
- Derouard, L., Tondoh, J., Vilcosqui, L., & Lavelle, P. (1996).** Effects of earthworm introduction on soil processes and plant growth. *Soil Biology & Biochemistry*, 29 : 541 – 545.
- Downey, R. K., & Roebbelen, G. (1989).** *Brassica species*. In : *Oil Crops of the World*, Roebbelen, G., Downey, R. K. & Ashiri, A., (Eds.), *McGraw-Hill Publishing Company*, New-York, USA : 339 – 382.
- Dubbin, W. E., & Louise Ander, E. (2003).** Influence of microbial hydroxamate siderophores on Pb(II) desorption from α -FeOOH. *Applied Geology and Chemistry* 18 : 1751 – 56.
- Dudka, S., Piotrowska, M. & Terelak, H. (1996).** Transfer of cadmium, lead, and zinc from industrially contaminated soil to crop plants : A field study. *Environmental Pollution*, 94 : 181 – 188.
- Emsley, J. (2001).** *Nature's Building Blocks : an AZ guide to the elements*. Oxford Paperbacks Series, Oxford University Press, Oxford, Cambridge, United Kingdom. 538 p.
- Fahey, J.W., Zalcmann, A.T., Talalay, P. (2001).** The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56 : 5 – 51.

- Förstner, U. (1985).** Chemical forms and reactivities of metal in sediments. In : Chemical methods for assessing bio-available metals in sludges and soil. Leschber, R., Davis, R. D., L'Hérmite, P. *Elsevier Applied Science Publishers* : 1 – 30.
- Foy, C. D., Chaney, R.L., & White, M. C. (1978).** The physiology of metal toxicity in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 29 : 511 – 566.
- Franzke, A., Lysak, M. A., Al-Shehbaz, I. A., Koch, M. A., & Mummenhoff, K. (2011).** Cabbage family affairs: the evolutionary history of Brassicaceae. *Trends in Plant Science*, 16 : 108 – 116.
- Fytianos, K., Katsianis, G., Triantafyllou, P. & Zachariadis, G. (2001).** Accumulation of heavy metal in vegetables grown in an industrial area in relation to soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67 : 423 – 430.
- Gadd, J. M. (2000).** Phytoremediation of toxic metals : using plants to clean up the environment. Raskin, I. and Ensley, B. D., *John Wiley & Sons Incorporation*, New-York. 304 p.
- Garbisu, C., Alkorta, I. (2001).** Phytoextraction: A cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioremediation Technology*. 77 : 229 – 236.
- Gerritse, R. G., & Van Driel, W. (1984).** The Relationship between adsorption of trace metals, organic matter and pH in temperate soils. *Journal of Environmental Quality* 13, (2) : 197 – 204.
- Glaser, R. A. B., & Hernandez, L. Jr. (1972).** Lead detection in living plant tissue using a new histochemical method. *Journal of Air Pollution Control Association*, 22 (6) : 463 – 467.
- Glick, B. R. (2003).** Phytoremediation : synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances*, 21 : 383 – 93.

- Glinski, J., & Lipiec, J. (1990).** Soil physical conditions and plant roots. *CRC Press Inc.*, Boca Raton, Florida, USA. 250 p.
- Gobat, J. M., Aragno, M., & Matthey, W. (1998).** Le sol vivant : Bases de pédologie, biologie des sols. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Collection « Gérer l'Environnement », 14. 592 p.
- 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*, 10 : 97 – 114.
- Godzik, B. (1993).** Heavy metal contents in plants from zinc dumps and reference area. *Polish Botanical Studies*, 5 : 113 – 132.
- Gomez-Campo, C. (1980).** Morphology and morpho-taxonomy of the tribe *Brassicaceae*. In : Tsunoda, S., Hinata, K., Gomez-Campo, C. (Eds) *Brassica crops and wild allies, biology and breeding*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo : 3 – 31.
- Hall, J. L. (2002).** Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53 : 1 – 11.
- Hayek, A. (1911).** Entwurf eines Cruciferensystems auf phylogenetischer Grundlage. *Beihefte zum Botanischen Centralblatt*, 27 : 127 – 335.
- Hickman, Z. A., & Reid, B. J. (2008).** Earthworm assisted bioremediation of organic contaminants. *Environment International*, 34 : 1072 – 1081.
- Hinsinger, P. (2001).** Bioavailability of trace elements as related to root-induced chemical changes in the rhizosphere. In : Trace Elements in the Rhizosphere (G. R. Gobran, W. W. Wenzel and Lombi Eds.), *CRC Press LCC*, Boca Raton, Florida, USA : 25 – 41.
- Hinsinger, P., Schneider, A., Dufey, J. E. (2005).** Le sol : ressource en nutriments et biodisponibilité. In : « *Sols et Environnement* », Editions Dunod, Paris : 285 – 305.
- Hirsch, R. E., Lewis, B. D., Spalding, E. P., & Sussman, M. R. (1998).** A role for the AKT1 potassium channel in plant nutrition. *Science*, 280 : 918 – 92.

- Huang, J. W., & Cunningham, S. D. (1996).** Lead phytoextraction : species variation in lead uptake and translocation. *New Phytologist*, 134 (1) : 75 – 84.
- Huang, J. W., Chen, J., Berti, W. R., & Cunningham, S. D. (1997).** Phytoremediation of lead-contaminated soils : Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environmental Science and Technology*, 31 : 800 – 805.
- Huang, X. D., Zeiler, L. F., Dixon, D. G., & Greenberg B. M. (1996).** Photoinduced toxicity of PAHs to the foliar regions of *Brassica napus* (Canola) and *Cucumis sativus* (Cucumber) in simulated solar radiation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35 : 190 – 197.
- Husson, O. (2013).** Redox potential (Eh) and pH as drivers of soil/plant/microorganisms systems : a transdisciplinary overview pointing to integrative opportunities for agronomy. *Plant Soil*, 362 (2) : 389 – 417.
- Janchen, E. (1942).** Das System der Cruciferen. *Österreichische Botanische Zeitschrift*, 91 (1) : 1 – 28.
- Jarvis, M. D., & Leung, D. W. M. (2002).** Chelated lead transport in *Pinus radiata* : an ultrastructural study. *Environmental and Experimental Botany*, 48 : 21 – 32.
- Jemal, A., Ayub, N., Usman, M., & Khan, A. G. (2002).** Arbuscular mycorrhizal fungi enhance zinc and nickel uptake from contaminated soil by soybean and lentil. *International Journal of Phytoremediation*, 4 : 205 – 221.
- Jentschke, G., & Godbold, D., (2000).** Metal toxicity and ectomycorrhizas. *Physiologia Plantarum*, 109 : 107 – 116.
- Jorgense, S.E. (1993).** Removal of heavy metals from compost and soil by ecotechnological methods. *Ecological Engineering*, 2 : 89 – 100.
- Kabata-Pendias, A. (2001).** Trace elements in soils and plants. *Third ed.* CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 395 p

- Kabata-Pendias, A., & Pendias, H., (1992).** Trace elements in soils and plants. *Second ed.* CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 365 p.
- Kim, I. S., Kang, H. K., Johnson-Green, P. & Lee, E. J. (2003).** Investigation of heavy metal accumulation in *Polygonum thunbergii* for phytoextraction. *Environmental Pollution*, 126 : 235 – 243.
- Koller, K. (2004).** Recent developments in lowlevel lead exposure and intellectual impairment in children. *Environmental Health Perspectives*, 112 (9) : 987 – 994.
- Kraemer, S. M., Cheah, S-F., Zapf, R., Xu, J., Raymond, K. N., & Sposito, G. (1999).** Effect of hydroxamate siderophores on Fe release and Pb(II) adsorption by goethite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63 (19-20) : 3003 – 3008.
- Krämer, U., Smith, R. D., Wenzel, W., Raskin, I., & Salt, D E. (1997).** The role of metal transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by *Thlaspi goesingense* Halacsy. *Plant Physiology*, 115 : 1641 – 1650.
- Kuffner, M., Puschenreiter, M., Wieshammer, G., Gorfer, M., & Sessitsch, A. (2008).** Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. *Plant and Soil*, 304 : 35 – 44.
- Kumar, P. B. A. N., Dushenkov, V., Motto, H., & Raskin, I. (1995).** Phytoextraction : The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science and Technology*, 29 : 1232 – 1238.
- Lamy, I. (2002).** Réactivité des matières organiques des sols vis-à-vis des métaux. *Journées nationales de l'étude des sols*. 22-24 octobre, Orléans : 22 – 29.
- Lane, S. D., & Martin, E. S. (1977).** A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. *New Phytologist*, 79 : 281 – 286.
- Lasat, M. M. (2002).** Phytoextraction of toxic metals : a review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality*, 31 : 109 – 120.

- Lasat, M. M., Fuhrmann, M., Ebbs, S. D., Kochian, L. V., & Cornish, J. (2002).** Uptake of Cesium-137 and Strontium-90 from contaminated soil by three plant species ; application to phytoremediation. *Journal of Environmental Quality*, 31 (3) : 904 – 909.
- Lebeau, T., Braud, A., & Jezequel, K., (2008).** Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils : A review. *Environmental Pollution*, 153 (3) : 497 – 522.
- Lee, J., Reeves, R. D., Brooks, R. R., & Jaffré, T. (1977).** Isolation and identification of a citratocomplex of nickel from nickel-accumulating plants. *Phytochemistry*, 16 : 1502 – 1505.
- Lee, S. Z., Chang, L., Yang, H. H., Chen, C. M., Liu, M. C. (1998).** Absorption characteristics of lead onto soils. *Journal of Hazardous Mater*, 63 : 37 – 49.
- Li, L.Y., & Li, R.S. (2000).** The role of clay minerals and the effects of H⁺ ions on removal of heavy metals (Pb²⁺) from contaminated soils. *Canadian Journal of Geotechnology*, 37 (2) : 296 – 307.
- Lombi, E., Zhao, F. J., Dunham, S. J., & McGrath, S. P. (2001).** Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils : natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. *Journal of Environmental Quality*, 30 : 1919 – 1926.
- Loué A. (1993).** Oligoelements en agriculture. Editions Nathan, Paris, France. 577 p.
- Luo, C., Shen, Z., Lou, L., & Li, X. (2006).** EDDS and EDTA-enhanced phytoextraction of metals from artificially contaminated soil and residual effects of chelant compounds. *Environmental Pollution*, 144 : 862 – 871.
- MacLaughlin, M. J., Zarcinas, B. A., Stevens, B. A. & Cook, N. (2000).** Soil testing for heavy metals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31 : 1661 – 1700.
- Mallick, N., & Rai, L. C. (2002).** Physiological responses of non-vascular plants to heavy metals. In : *Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants*, Springer-Verlag, Netherlands : 111 – 147.

- Marchiol, L., Assolari, S., Sacco, P., & Zerbi, G. (2004).** Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environmental Pollution*, 132 : 21 – 27.
- Mattina, M. J. L., Lannucci-Berger, W., Musante, C. & White J. C. (2003).** Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soils. *Environmental pollution*, 124 : 375 – 378.
- McBride, M., Sauve, S., & Hendershot, W., (1997).** Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. *European Journal of Soil Science*, 48 : 337 – 346.
- McGrath, S. P. (1998).** Phytoextraction for soil remediation. In : *Plants that hyperaccumulate heavy metals : their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining*. CAB International, Wallingford, UK : 261 – 288.
- Mench, M., & Martin, E. (1991).** Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L. *Plant and Soil*, 132 : 187 – 196.
- Miquel, M. G. (2001).** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. *Rapport au Sénat français de l'office parlementaire des choix scientifiques*.
- Morel, J. L. (1985).** Contribution à l'étude des transferts de métaux lourds dans le système sol-plante : le rôle des mucilages racinaires. *Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine*, France. 176 p.
- Morel, J. L. (1997).** Bioavailability of trace elements to terrestrial plants. In : Tarradellas J., Bitton G., Rossel D. (eds) *Soil ecotoxicology*. Lewis Publishers, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA : 141 – 176.
- Musil, A. F. (1950).** Identification of brassicas by seedling growth or later vegetative stages. *Circular, United States Department of Agriculture*. 857 p.

- Nieboer, E., & Richardson, D. (1980).** The replacement of the nondescript term « heavy metals » by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environmental Pollution Series B, Elsevier Ltd.*, 1 (1) : 3 – 26.
- Nriagu, J. O. (1990).** Global metal pollution : poisoning the biosphere. *Environment Target*, 32 (7) : 28 – 33.
- Otte, M. L., Rozema, J., Koster, L., Haarsma, M. S., & Broekman, R. A. (1987).** The iron-plaque on the roots of saltmarsh plants : A barrier to heavy metal uptake ? *International Conference for Heavy Metals in the Environment*, New Orleans (USA). CEP Consultants, Edinburgh, Scotland.
- Pais, I., & Benton Jones, J. (2000).** The handbook of Trace Elements. Boca Raton, Florida, USA. *St. Lucie Press*. 223 p.
- Parlement Européen, Conseil de l'Union Européenne.** Décision 94/403/CE établissant une liste de déchets en application de la directive 91/689/CEE du Conseil relative aux déchets dangereux.
- Parlement Européen, Direction de la Commission Européenne.** Décision du 03/05/2000 remplaçant la décision 94/03/CE de la directive 75/442/CEE du Conseil, relative aux déchets.
- 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 (3) : 199 – 223.
- Perrono, P. (1999).** Les micropolluants métalliques des boues de stations d'épuration urbaine et l'épandage agricole. *Mémoire DUESS, DEP, Université de Picardie*, Amiens, France.
- Pichtel, J., Kuroiwa, K. & Sawyerr, HT. (2000).** Distribution of Pb, Cd and Ba in soils and plants of two contaminated sites. *Environmental Pollution*, 110 : 171 – 178.

- Pourrut, B. (2008).** Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. *Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse*, Institut National Polytechnique de Toulouse. 297 p.
- Prasad, M. N. V., & Hagemeyer, J. (1999).** Heavy metal stress in plants : from molecules to ecosystem. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Promeyrat, S. (2001).** Utilisation de la bioindication végétale comme moyen d'investigation de la pollution atmosphérique de proximité d'une autoroute. *Thèse de doctorat*.
- Pulford I. D., Kimber, A. J., & Duncan, H.J. (1982).** Influence of pH and manganese oxides on the extraction and adsorption of trace metals in colliery spoil from the central Scotland coalfield. *Reclamation and Revegetation Research*, 1 : 19 – 31.
- Rapport d'Information au Sénat n°261 du 5 avril 2001
- Raskin, I., Kumar, P. B. A. N., Dushenkov, S., & Salt, D. E. (1994).** Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 5 : 285 – 290.
- Raskin, I., Smith, R. D., & Salt, D. E. (1997).** Phytoremediation of metals : Using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology*, 8 : 221 – 226.
- Rauser, W. E. (1995).** Phytochelatins and related peptides: structure, biosynthesis, and function. *Plant Physiology*, 109 : 1141 – 49.
- 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 pour l'obtention du titre de Docteur des Universités en Biologie Végétale*, Université Jean Monnet, Faculté des Sciences et Techniques, Saint-Etienne, France.
- Robert, M., & Chenu, C. (1992).** Interactions between soil minerals and microorganisms. *Soil Biochemistry*, 7 : 307 – 404.

- Robert, M., & Juste, C. (1999).** Enjeux environnementaux et industriels : Dynamique des éléments traces de l'écosystème sol – Spéciation des métaux dans le sol. *Les Cahiers des Clubs CRIN « Environnement »*, Paris, France : 15 – 37.
- Römhel, V. (1991).** The role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in graminaceous species : an ecological approach. *Plant Soil*, 130 : 127 – 134.
- Ross, S. M. (1994).** Toxic metals in soil-plant systems. *John Wiley & Sons*, Chichester, England.
- Rugh, C. L., Wilde, D., Stack, N. M., Thompson, D. M., Summers, A. O., & Meagher, R. B. (1996).** Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial merA gene. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 93 : 3182 – 3187.
- Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, P. B. A. N., Dushenkov, V., Ensley, B. D., Chet, I., & Raskin, I. (1995).** Phytoremediation : a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*, 13 : 468 – 474.
- Salt, D. E., Pickering, I. J., Prince, R. C., Gleba, D., Dushenkov, S., Smith, R. D., & Raskin, I. (1997).** Metal accumulation by aquacultured seedlings of Indian mustard. *Environmental Science and Technology*, 31 : 1636 – 1644.
- Salt, D. E., Smith, R. D., & Raskin, I. (1998).** Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49 : 643 – 668.
- Sanders, J. R., Mc Guth, S. P., & Adams, T. M. (1986).** Zinc, copper and nickel concentrations in ray-grass grown on sewage sludge-contaminated soils of different pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37 : 961 – 968.
- Sanders, J. R. (1983).** The effect of pH on the total and free ionic concentrations of manganese, zinc and cobalt in soil solutions. *Journal of Soil Science*, 34 : 315 – 323.

- Schulz, O. E. (1936).** Cruciferae. In : *Engler A, Harms H (eds) Die natürlichen pflanzenfamilien. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig* : 227 – 658.
- Seregin, I. V., & Ivanov, V. B. (2001).** Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 48 (4) : 523 – 544.
- Seregin, I. V., Shpigun, L. K., & Ivanov, V. B. (2004).** Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize Roots. *Russian Journal of Plant Physiology*, 51 : 525 – 533.
- Settle, D. M., & Patterson, C. C. (1980).** Lead in albacore : guide to lead pollution in Americans. *Science*, 207 : 1167 – 1176.
- Shah, K., Nongkynrih, J. (2007).** Metal hyperaccumulation and bioremediation. *Biologia Plantarum*, 51 (4) : 618 – 634.
- Sharma, P., & Dubey, R. S. (2005).** Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17 (1) : 35 – 52.
- Singh, O. V., Labana, S., Pandey, G., Budhiraja, R., & Jain, R. K. (2003).** Phytoremediation : an overview of metallic ion decontamination from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61 : 405 – 412.
- Singh, R. P., Tripathi, R. D., Sinha, S. K., Maheshwari, R., & Srivastava, H. S. (1997).** Response of higher plants to lead-contaminated environment. *Chemosphere*, 34 : 2467 – 2493.
- Song, K. M., & Osborn, T. C. (1992).** Polyphyletic origins of *Brassica napus* : new evidence based on organelle and nuclear RFLP analyses. *Genome*, 35 (6) : 922 – 1001.
- Song, K. M., Osborn, T. C., & Williams, P. H. (1988).** *Brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). *Theoretical and Applied Genetics*, 75 (5) : 784 – 894.

- Sposito G., Lund, L. J., & Chang, A. C. (1982).** Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge : fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. *Soil Science Society of America Journal*, 46 : 260 – 264.
- Tandy, S., Schulin, R., & Nowack, B. (2006).** Uptake of metals during chelant-assisted phytoextraction with EDDS related to the solubilized metal concentration. *Environmental Science & Technology*, 40 : 2753 – 2758.
- Tanhan, P., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P. & Chaiyarat, R. (2007).** Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by siam weed (*Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson]. *Chemosphere*, 68 : 323 – 329.
- Tanton, T. W., & Crowdy, S. H. (1971).** The distribution of lead chelate in the transpiration stream of higher plants. *Pesticide Science*, 2 (5) : 211 – 213.
- Tao, S., Liu, W. X., Chen, Y. J., Cao, J., Li, B. G., & Xu, F.L. (2005).** Fractionation and bioavailability of copper, cadmium and lead in rhizosphere soil. In : *PM Huang & GR Gobran (Eds) Biogeochemistry of trace elements in the rhizosphere*. Elsevier, Amsterdam : 313 – 336.
- Tapia-Coral, C., Luizão, J., Flávio, S., Eleusa, B., Beto, P., & Dennis Del, C. (2006).** Effect of *Pontoscolex corethrurus* Muller, 1857 (Oligochaeta : Glossoscolecidae) inoculation on litter weight loss and soil nitrogen in mesocosms in the peruvian amazon. *Caribbean Journal of Science*, 42 : 410 – 418.
- Tomsett, A.B., & Thurman, D. A. (1988).** Molecular biology of metal tolerance of plants. *Plant, Cell & Environment*, 11 : 383 – 394.
- Tsunoda, S. (1980).** Eco-physiology of wild and cultivated forms in *Brassica* and allied genera. *Brassica crops and wild allies*, 22 (1) : 109 – 120.
- Tung, G., & Temple, P. J. (1996).** Uptake and localization of lead in corn (*Zea mays* L.) seedlings : a study by histochemical and electron microscopy. *Science of the Total Environment Journal*, 188 : 71 – 8.

- Van Steveninck, R. F. M., Van Steveninck, M. E., Wells, A. J., & Fernando, D.R. (1990).** Zinc tolerance and the binding of zinc as zinc phytate in *Lemna minor*. X-ray microanalytical evidence. *Journal of Plant Physiology*, 137 : 140 – 146.
- Vaughan, C. E., Gregg, E. R., & Delouche, J. C. (1976).** Beneficiamento e manuseio de sementes. Ministério da Agricultura, AGIPLAN, Brasil.
- Verkleij, J. A. C. & Schat, H. (1990).** Mechanisms of metal tolerance in plants. Heavy metals tolerance in plants-evolutionary aspects. *CRC press* : 179 – 193.
- Vinogradov, A. P. (1962).** Average contents of chemical elements in the principal types of igneous rocks of the Earth's crust. *Journal of Geochemistry*, 7 : 641 – 664.
- Von Wiren, N., Mori, S., Marschner, H., Römheld, V., (1994).** Iron inefficiency in maize ysl (*Zea mays* L. cv Yellow-Strip) is caused by a defect in uptake of iron siderophores. *Plant Physiology*, 106 : 71 – 77.
- Von Wiren, N., Römheld, V., Shioiri, T., & Marschner, H. (1995).** Competition between microorganisms and roots of barley and sorghum for iron accumulated in the root apoplasm. *New Phytologist*, 130 : 511 – 521.
- Wang, G., Su, M.-Y., Chen, Y.-H., Lin, F.-F., Luo, D. & Gao, S.-F. (2006).** Transfer characteristics of cadmium and lead from soil to the edible parts of six vegetable species in southeastern China. *Environmental Pollution*, 144 : 127 – 135.
- Wedepohl, K. H. (1961).** Distribution of the elements in some major units of the Earth's crust. *Geological Society of America, Bulletin*, 72 (2) : 175 – 192.
- Wenzel, W. W. (2009).** Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant and Soil*, 321 : 385 – 408.
- Whiting, S. N., DeSouza, M. P., & Terry, N. (2001).** Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi Caerulescens*. *Environmental Science and Technology*, 35 : 3144 – 3150.

- Wierzbicka, M. (1987).** Lead accumulation and its translocation barriers in roots of *Allium cepa* L. : autoradiographic and ultrastructural studies. *Plant, Cell & Environment*, 10 : 17 – 26.
- Wu, Z., Gu, Z., Wang, X., Evans, L., & Guo, H. (2003).** Effects of organic acids on adsorption of lead onto montmorillonite, goethite and humic acid. *Environmental Pollution*, 121 : 469 – 475.
- Xian, X. (1989).** Effect of chemical forms of cadmium, zinc, and lead in polluted soils on their uptake by cabbage plants. *Plant Soil*, 113 : 257 – 264.
- Yang, X., Li, T., Yang, J., He, Z., Lu, L., & Meng, F. (2006).** Zinc compartmentation in root, transport into xylem, and absorption into leaf cells in the hyperaccumulating species of *Sedum alfredii* Hance. *Planta*, 224 : 185 – 195.
- Yang, X., Römheld, V., & Marschner, H., (1993).** Effect of bicarbonate and root zone temperature on uptake of Zn, Fe, Mn and Cu by different rice cultivars (*Oryza stiva* L.) grown in calcareous soil. *Plant Soil*, 155/156 : 441 – 444.
- Yanqun, Z., Yuan, L., Schwartz, C., Langlade, L. & Fan L. (2004).** Accumulation of Pb, Cd, Cu and Zn in plants and hyperaccumulator choice in Lanping lead-zinc mine area, China. *Environment International*, 30 : 567 – 576.
- Ye, Z. H., Wong, J. W. C., & Wong, M. H. (2000).** Vegetation response to lime and manure compost amendments on acid lead/zinc mine taillings : a greenhouse study. *Restoration Ecology*, 8 (3) : 289 – 295.
- Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q. & Ma, L. Q. (2006).** Accumulation of Pb, Cu and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *The Science of the Total Environment*, 368 : 456 – 464.
- Zheng, N., Wang, Q. & Zheng, D. (2007).** Health risk of Hg, Pb, Cd, Zn, and Cu to the inhabitants around Huludao Zinc Plant in China via consumption of vegetables. *Science of Total Environment*, 383 : 81 – 89.

ANNEXES

Revue bibliographique concernant la famille *Brassicaceae*, le genre *Brassica* et l'espèce *Brassica napus* L.

I – La famille *Brassicaceae*

Les *Brassicaceae* forment une grande famille d'angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Brassicales. Cette famille est divisée en 10 à 19 tribus (respectivement selon Hayek, 1911, et Schulz, 1936), ou 15 selon Janchen (1942).

Ce tribus réunissent 338 à 360 genres pour un total de 3709 espèces réparties sur tous les continents, excepté l'Antarctique (Al-Shehbaz, 1973 ; Appel et Al-Shehbaz , 2003 ; Al-Shehbaz *et al.*, 2006).

Selon le code international de nomenclature botanique (ICBN, pour *International Code of Botanical Nomenclature*), article 18.5 du Code de Vienne, les noms « *Cruciferae* » et « *Brassicaceae* » sont tous deux valides et également acceptés pour nommer la famille. Le terme « crucifères », qui a premièrement été donné aux membres de la famille de brassicacées, vient de la disposition en forme de croix des pétales de ces plantes.

I.1 – Morphologie générale des brassicacées

La famille des brassicacées regroupe principalement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou pérennes, selon les espèces considérées. Seuls cinq (05) pour cent des membres de cette famille sont des lianes ligneuses atteignant un (1) à neuf (9) mètres de long (Al-Shehbaz, 1984 ; Frankze *et al.*, 2011).

I.1.1 – Les feuilles

Les feuilles des brassicacées sont alternes, rarement opposées, et parfois organisées en rosette basale ; quelques rares crucifères de Méditerranée ont des feuilles qui peuvent-être coriaces et sempervirentes organisées en rosette terminale.

Les feuilles des membres de cette famille botanique sont presque toujours des feuilles pennées largement incisées et ne possédant pas de stipule.

De plus, les plantes de cette famille sont facilement reconnaissables de par le goût âcre de leurs feuilles.

Enfin, la présence de feuilles épaisses ou de feuilles cireuses aux trichomes caractéristiques est aussi un trait d'intérêt commun à certains membres de la famille des crucifères.

II.1.2 – Les fleurs

La structure des fleurs est largement uniforme au sein des membres de la famille des *Brassicaceae* : on retrouve presque invariablement quatre (4) pétales jaunes diamétralement opposés formant une croix caractéristique. Mais, bien que globalement identiques en forme et en couleur, toutes les plantes appartenant à la famille des crucifères ne possèdent pas les mêmes caractéristiques florales.

Ainsi, certaines espèces peuvent présenter de rares exceptions comme une symétrie axiale plus ou moins prononcée (zygomorphie, cas du genre *Iberis*), ou des pétales blancs, roses ou encore violacés.

II.1.3 – Autres caractères morphologiques

Les autres traits morphologiques caractérisant les *Brassicaceae* sont listés ci-après :

- le nombre d'étamines : généralement au nombre de six (6), excepté pour les espèces du genre *Lepidium* qui en possèdent deux (2) à quatre (4), et pour *Megacarpeae polyandra*, qui a entre huit (8) et vingt-quatre (24) étamines ;
- le type de nectaire, qui peut être médian, latéral, ou une combinaison des deux (selon les travaux de Davis *et al.*, 1998, qui ont permis de déterminer que pour certaines espèces le glucose était prédominant dans le nectaire alors que pour d'autre, le saccharose dominait) ;

- l'ovaire en position supère ;
- l'inflorescence : généralement constituée d'une bractée racémique, parfois d'un pseudo-corymbe apical ;
- la pollinisation strictement entomogame : le nectar étant produit à la base des étamines, les insectes doivent buter contre les anthères desdits étamines pour prélever ce nectar ;
- les fruits produits : bien que grandement variés, il s'agit généralement de capsules déhiscentes bivalvées (siliques ou silicules) ; on retrouve parfois, en fonction des espèces, des fruits indéhiscent comme des pseudo-akènes ou, plus rarement encore, des schizocarpes, des drupes etc. ;
- les taille des graines : très variable - les plus petites graines étant celles d'une espèce mexicaine de *Mancoa* (0,02 mg) et celles des espèces sahariennes de *Diploaxis*, et les plus grandes celles de *Megacarpaea gigantea*, mesurant entre 1,5 et 2 cm de diamètre et pesant 90 mg (Al-Shehbaz, 1984, 1986) ;
- le mode de reproduction : généralement sexué, par le biais des graines qui tombent près des plants-mères ; cependant, de rares membres de la famille des *Cruciferae* se prêtent facilement à la multiplication végétative.

II.2 – Composition chimique des brassicacées

Beaucoup de genres appartenant à la famille des crucifères ont été étudiés pour leur composition chimique, particulièrement pour déterminer les variations en constituants des huiles, des acides gras des graines et de la composition des glucosinolates.

Il a été montré que les glucosinolates (dérivés d'acides aminés, métabolites secondaires) et les produits issus de l'hydrolyse, qui confèrent aux brassicacées leur odeur et

leur goût caractéristiques, jouent un rôle important dans la défense chimique des plantes contre les agents pathogènes, les herbivores et les adventices (Angelini *et al.*, 1998 ; Clauss *et al.*, 2006).

Il a aussi été rapporté que les crucifères ont plus de quatre-vingt-seize (96) glucosinolates différents, et que la majorité d'entre eux ne sont rencontrés que dans certains genres et certaines espèces (Fahey *et al.*, 2001).

III – Le genre *Brassica*

Le genre *Brassica* est l'un des cinquante-et-un (51) genres de la tribu des *Brassicaceae*, appartenant à la famille des crucifères. Ce genre contient nombre d'espèces qui fournissent des racines, des tiges, des feuilles, des fleurs, des graines et des huiles comestibles.

D'un point de vue agronomique, ce genre est le plus important, passant même devant les genres *Raphanus* (cultivé pour ses racines, comme le radis) *Sinapis* (utilisé pour extraire des condiments). Selon Gomez-Campo (1980), il s'agit du genre le plus important du point de vue économique, avec les trente-sept (37) espèces qui en font partie.

III.1 – Origine de quelques espèces appartenant au genre *Brassica*

Selon Vaughn *et al.* (1976), les espèces les plus anciennes du genre *Brassica* sont :

- *Brassica nigra* (la moutarde noire), avec $n = 8$ chromosomes,
- *Brassica oleracea* (les choux), avec $n = 9$ chromosomes, et
- *Brassica rapa* (les navets) avec $n = 10$ chromosomes.

Les autres espèces du genre seraient toutes issues de croisements naturels entre ces trois espèces, donnant de nouvelles espèces toutes amphidiploïdes (c'est-à-dire contenant les matériels génétiques des deux espèces entrant en jeu dans cette hybridation).

Ainsi, à titre d'exemple, la moutarde brune, *Brassica juncea* ($n=18$), serait issue du croisement entre *B. nigra* et *B. rapa*.

De même, l'espèce *Brassica carinata* (n = 17) aurait pour origine le croisement entre *B. nigra* et *B. oleracea*.

Enfin, le colza, ou *Brassica napus* (n=19), serait issu du croisement entre *B. oleracea* et *B. rapa*.

IV – Le colza, ou *Brassica napus*

IV.1 – Origine géographique du colza

Le centre d'origine de l'espèce *B. napus* est incertain, mais on considérait jusqu'au milieu des années 80 que cette espèce était très probablement d'origine euro-méditerranéenne. Tsunoda (1981), par exemple, place la zone originelle de l'espèce en région méditerranéenne, mais il est plus probable que cette espèce soit apparue spontanément en plusieurs endroits à la suite de croisements spontanés entre les deux espèces que sont *B. rapa* et *B. oleracea*.

On en croise en effet des formes sauvages sur les plages Suédoises, celles de Grande-Bretagne ou encore aux Pays-Bas. Des formes naturalisées de *B. napus* poussent également sur les falaises de Nouvelle-Zélande, là où croissent à l'état sauvage *B. rapa* et *B. oleracea*.

L'étude postérieure de marqueurs nucléaires et chloroplastiques tend à prouver que le colza est effectivement une espèce amphidiploïde issue de diverses hybridations indépendantes et espacées dans le temps (Song *et al.*, 1988 ; Song et Osborn, 1992 ; Allender et King, 2010).

Ces mêmes études ont montré que la quasi-totalité des cultivars actuels dérivent du même croisement entre *B. oleracea* (n = 9) et *B. rapa* (n = 10). L'amphiploïdie de l'espèce *B. napus* lui confère donc un double jeu de matériel génétique (n = 19 chromosomes), chacun étant issu de l'une des deux espèces originelles impliquées dans l'hybridation.

On mentionne explicitement le colza oléagineux et la moutarde dans des textes sanskrits datant de 2000 à 1500 ans avant Jésus-Christ, et dans des écrits grecs, romains et chinois remontant aux années 500 à 200 avant notre ère (Downey et Röbbelen, 1989).

En Europe, on croit que la culture du colza a commencé au début du Moyen Âge et qu'elle est devenue commerciale aux Pays-Bas dès le XVI^{ème} siècle de notre ère. À cette époque, l'huile de colza servait principalement de combustible à lampe ; plus tard, on l'a utilisée comme lubrifiant des moteurs à vapeur.

L'huile de colza était largement utilisée comme huile comestible en Asie, mais, pour qu'elle devienne importante en Occident, il a fallu attendre l'amélioration de sa qualité et des techniques de transformation.

IV.2 – Description de l'espèce

Plante herbacée annuelle ou bisannuelle, de 80 à 120 cm de haut en moyenne, le colza émet une tige principale immédiatement au-dessus de sa racine pivotante.

IV.2.1 – Les feuilles

Le colza possède des feuilles vert bleuâtre foncé, toutes glabres et glauques (ou portant quelques poils épars près de la marge), partiellement embrassantes.

Les feuilles inférieures sont lyrées-pennatipartites, alternes, pétiolées, glauques, longues de 5 à 25 cm (allant jusqu'à 35 cm) et larges de 2 à 7 cm (pouvant aller jusqu'à 10 cm de large). Ces feuilles possèdent un large lobe terminal ovoïde, entier ou denté, et des lobes latéraux ovoïdes beaucoup moins larges, entiers ou dentés.

Les feuilles supérieures et médianes sont sessiles, lancéolées, ovales ou oblongues, rétrécies au-dessus de la base, embrassantes-auriculées, glauques, à marge entière et étalée, longues d'environ 9 cm pour 3,5 cm de large.

IV.2.2 – La tige

Émise juste au-dessus du collet, la tige principale est fine et glabre. Sa ramification est très variable selon la variété considérée et les conditions du milieu où elle pousse. Les ramifications, toujours très fines, prennent naissance à l'aisselle des feuilles supérieures de la tige, et chacune se termine par une inflorescence.

IV.2.3 – L'inflorescence

Il s'agit d'une grappe allongée de fleurs jaunes rassemblées aux extrémités, mais ne dépassant pas les bourgeons terminaux.

Les fleurs, bisexuées, ont une couleur allant du jaune pâle au jaune d'or ; elles sont relativement grandes (leur diamètre allant de 10 à 15 mm) et espacées (même à la floraison).

Elles possèdent quatre (4) sépales oblongs subégaux, un peu étalés, de couleur jaune-verdâtre et glabres. Les quatre (4) pétales sont obovaux, rétrécis à la base.

Les étamines, au nombre de six (6), sont ascendantes et ont des anthères jaunes.

Les fleurs s'ouvrent successivement à partir de la base de l'inflorescence (Musil, 1950).

Les ovaires sont glabres, verts, longs de 4 à 5 mm et possèdent des styles (longs de 1,7 mm) et des stigmates persistants.

IV.2.4 – Les fruits

Ce sont des siliques glabres, longs de 4,5 à 11 cm pour une largeur de 3 à 4 mm et possédant un bec terminal 4 à 5 fois plus court que les valves (soit 1 à 3 cm de long environ) ; ce sont des fruits déhiscent.

Chaque silique abrite plus d'une trentaine de graines.

IV.2.5 – Les graines

Elles sont globuleuses (1,5 à 2,5 mm de diamètre), finement réticulées et brillantes (la couleur allant du brun foncé au noir).

IV.3 – Ecologie de *Brassica napus*

Le colza et ses ancêtres sont des végétaux d'habitats perturbés. Dans les écosystèmes naturels, ces espèces sont considérées comme pionnières car elles sont les premières à tirer

profit des terres perturbées, où elles concurrencent pour l'espace les végétaux de types semblables.

À moins qu'il ne s'agisse d'un habitat régulièrement perturbé, comme un bord de falaise, de rivière ou de sentier pratiqué par les animaux, les populations de ces types végétaux finissent par être supplantées par des espèces intermédiaires puis par les végétaux formant le climax (comme les graminées vivaces des prairies, les arbres et les arbustes vivaces des forêts). Cette succession végétale a lieu lorsque les perturbations de l'habitat considéré cessent.

Dans les écosystèmes aménagés, notamment les bords de routes, les zones industrielles et les terrains vagues, de même que dans les terres cultivées, il est possible qu'en raison de leur nature pionnière ces espèces se maintiennent en populations permanentes. Leur succès dépend donc de leur capacité à concurrencer pour l'espace les autres plantes pionnières, en particulier les herbes qui ont de la facilité à s'établir. Leur établissement dépend ensuite de la mesure dans laquelle ces espèces sont adaptées aux conditions (climatiques, édaphiques et autres) particulières à chaque lieu.

L'espèce est devenue, en Europe et en Afrique du Nord notamment, une crucifère commune le long des routes et dans les terrains vagues, les terres cultivées, les ports, les villes, les dépotoirs, les champs arables et les bords de rivières.

De plus, comme nombre d'espèces de la famille des *Brassicaceae* en général, et du genre *Brassica* en particulier, le colza est connu pour son aptitude à extraire et à accumuler les métaux toxiques (Marichiol *et al.*, 2004). Les propriétés génétiques de l'espèce *B. napus* lui confèrent en outre un rendement en biomasse élevé (Ben Ghnaya *et al.*, 2006) de l'ordre de 23 quintaux par hectare, donnant ainsi un argument de poids pour son utilisation en tant que plante dépolluante.

V – Données culturelles concernant le colza

V.1 – Les principaux stades phénologiques du colza

Il existe une échelle universelle pour toutes les monocotylédones et les dicotylédones, appelée BBCH (Biologische Bundesanstalt bunderssortenamt and CHemical industry).

Le colza est une plante possédant un cycle de vie décomposé en sept (07) phases – chacune subdivisée en un à plusieurs stades – que sont :

- La levée, aussi appelée phase cotylédonnaire : il s'agit des stades 00 à 09 de l'échelle BBCH. La radicule sort de la graine, suivie par les cotylédons qui se dirigent vers la surface du sol ; dès que les cotylédons ont percé la surface du sol, c'est la levée.
- La phase végétative avec le développement des feuilles (stades B1 à B6) : il s'agit des stades 10 à 19 de l'échelle BBCH. Les cotylédons sont complètement étalés ; on observe la sortie de la 1^{ère}, 2^{ème}, ..., 6^{ème} feuille étalée. La phase végétative se termine avec la formation de la rosette.
- Le repos végétatif (stade rosette ou stade C1) : il s'agit des stades 20 à 29 de l'échelle BBCH. Il y a durant cette phase début du développement des pousses latérales ; il peut y avoir jusqu'à neuf (09) pousses latérales.
- La reprise de végétation et la montaison (stades C2 à E) : il s'agit des stades 31 à 57 de l'échelle BBCH. Au stade 31 de cette échelle (stade C2), les entre-nœuds sont visibles. Il y a début de l'élongation de la tige principale ; un (01) entre-nœud visible, puis deux (02), puis trois (03) et ainsi de suite. Au stade 50 (stade D1), les boutons floraux sont accolés et restent cachés par les feuilles terminales. Au stade 53 (stade D2), l'inflorescence principale est dégagée : les boutons floraux dépassent les plus jeunes feuilles. Au stade 57 (stade E), les boutons sont séparés ; les boutons floraux des inflorescences secondaires sont individuellement visibles mais restent fermés. Puis les premiers pétales deviennent visibles alors que les fleurs sont toujours fermées.

- La floraison (stades F1 à G1) : il s'agit des stades 61 à 69 de l'échelle BBCH. On observe d'abord le début de floraison avec une première fleur ouverte (F1) avant d'atteindre la pleine floraison. La floraison s'achève ensuite, puis les premiers pétales commencent à tomber : c'est la fin de la floraison (G1)
- Le développement et le remplissage des siliques (stades G2 à G4) : il s'agit des stades 70 à 79 de l'échelle BBCH. Les fruits du colza, appelés siliques, commencent à se développer. Au stade 73 (G4), 30% des siliques ont atteint leur taille finale ; nous observons à ce stade les dix (10) premières siliques bosselées.
- La maturité des fruits et des graines (stades 80 à 97). Il y a début de maturation : les graines sont vertes et remplissent les siliques qui se bossèlent. A maturation complète, presque toutes les siliques sont à maturité : les graines sont alors noires et dures. La récolte peut avoir lieu.

V.2 – Sensibilité du colza aux différents stades :

Les plants de colza sont sensibles à différents problèmes lors de leurs divers stades de vie. Les principaux sont les suivants :

- Levée : sensibilité aux limaces.
- Phase végétative jusqu'au stade rosette : sensibilité aux insectes (petite altise, puceron, piéride et charançon du bourgeon terminal). A partir du stade 30 et jusqu'au stade 39, il y a sensibilité au phoma.
- Reprise de végétation : sensibilité aux charançons de la tige, aux piérides, aux méligèthes et aux pucerons cendrés (jusqu'à la formation des siliques).
- Début de floraison : sensibilité aux charançons des siliques et aux cécidomyies, ainsi qu'au sclérotinia.
- Remplissage des siliques : sensibilité à l'oïdium.

Teneurs naturelles de quelques métaux et métalloïdes dans les sols français, et nature des apports anthropiques (en mg.kg⁻¹).

	Teneurs naturelles en éléments traces dans les sols		Nature des apports anthropiques					
	Concentration moyenne dans la croûte terrestre	Valeurs extrêmes relevées dans les roches	Retombées atmosphériques	Epandages de boues de StEp	Activités industrielles	Activités urbaines et trafic routier	Activités agricoles	Activités minières
Cadmium (Cd)	0,2	46		X		X	X	
Cobalt (Co)	23	100-200		X	X			
Chrome (Cr)	100-200	1500-3000	X	X				
Cuivre (Cu)	45-70	80 -150			X	X	X	
Nickel (Ni)	80	2000			X			
Plomb (Pb)	13-16	30	X	X	X	X	X	X
Zinc (Zn)	70-132	120			X	X	X	X

Source : Baize, D. (1997). Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols de France, Inra Editions, 408 p.

**Distribution des éléments dans la croûte terrestre exprimée en ppm
selon Wedepohl et Turkerian, 1962.**

TABLE 2.—DISTRIBUTION OF THE ELEMENTS IN THE EARTH'S CRUST
(Expressed in parts per million)*

		Ultrabasic	"Igneous" Rocks		Syenites	Shales	Sedimentary Rocks		Carbonates	Deep-Sea Sediments	
			Basaltic Rocks'	Granitic Rocks High Calcium	Low Calcium		Sandstones			Carbonate	Clay
1 Hydrogen	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
2 Helium	He	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
3 Lithium	Li	0.X	17.	24.	40.	28.	66.	15.	5.	5.	57.
4 Beryllium	Be	0.X	1.	2.	3.	1.	3.	0.X	0.X	0.X	2.
5 Boron	B	3.	5.	9.	10.	9.	100.	35.	20.	55.	230.
6 Carbon	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
7 Nitrogen	N	6.	20.	20.	20.	30.	A	A	A	A	A
8 Oxygen	O	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
9 Fluorine	F	100.	400.	520.	850.	1200.	740.	270.	330.	540.	1300.
10 Neon	Ne	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
11 Sodium	Na	4200.	18,000.	28,400.	25,800.	40,400.	9600.	3300.	400.	20,000.	40,000.
12 Magnesium	Mg	204,000.	46,000.	9400.	1600.	5800.	15,000.	7000.	47,000.	4000.	21,000.
13 Aluminum	Al	20,000.	78,000.	82,000.	72,000.	88,000.	80,000.	25,000.	4200.	20,000.	84,000.
14 Silicon	Si	205,000.	230,000.	314,000.	347,000.	291,000.	73,000.	368,000.	24,000.	32,000.	250,000.
15 Phosphorus	P	220.	1100.	920.	600.	800.	700.	170.	400.	350.	1500.
16 Sulfur	S	300.	300.	300.	300.	300.	2400.	240.	1200.	1300.	1300.
17 Chlorine	Cl	85.	60.	130.	200.	520.	180.	10.	150.	21,000.	21,000.
18 Argon	Ar	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
19 Potassium	K	40	8300	25,200.	42,000.	48,000.	26,600.	10,700.	2700.	2900.	25,000.
20 Calcium	Ca	25,000.	76,000.	25,300.	5100.	18,000.	22,100.	39,100.	302,300.	312,400.	29,000.
21 Scandium	Sc	15.	30.	14.	7.	3.	13.	1.	1.	2.	19.
22 Titanium	Ti	300.	13,800.	3400.	1200.	3500.	4600.	1500.	400.	770.	4600.
23 Vanadium	V	40.	250.	88.	44.	30.	130.	20.	20.	20.	120.
24 Chromium	Cr	1600.	170.	22.	4.1	2.	90.	35.	11.	11.	90.
25 Manganese	Mn	1620.	1500.	540.	390.	850.	850.	X0.	1100.	1000.	6700.
26 Iron	Fe	94,300.	86,500.	29,600.	14,200.	36,700.	47,200.	9800.	3800.	9000.	65,000.
27 Cobalt	Co	150.	48.	7.	1.0	1.	19.	0.3	0.1	7.	74.
28 Nickel	Ni	2000.	130.	15.	4.5	4.	68.	2.	20.	30.	225.
29 Copper	Cu	10.	87.	30.	10.	5.	45.	X.	4.	30.	250.
30 Zinc	Zn	50.	105.	60.	39.	130.	95.	16.	20.	35.	165.
31 Gallium	Ga	1.5	17.	17.	17.	30.	19.	12.	4.	13.	20.
32 Germanium	Ge	1.5	1.3	1.3	1.3	1.	1.6	0.8	0.2	0.2	2.
33 Arsenic	As	1.	2.	1.9	1.5	1.4	13.	1.	1.	1.	13.
34 Selenium	Se	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.6	0.05	0.08	0.17	0.1
35 Bromine	Br	1	3.6	4.5	1.3	2.7	4.	1.	6.2	70.	70.
36 Krypton	Kr	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
37 Rubidium	Rb	0.2	30.	110.	170.	110.	140.	60.	3.	10.	110.
38 Strontium	Sr	1.	465.	440.	100.	200.	300.	20.	610.	2000.	180.
39 Yttrium	Y	0.X	21.	35.	40.	20.	26.	40.	30.	42.	90.
40 Zirconium	Zr	45.	140.	140.	175.	500.	160.	220.	19.	20.	150.
41 Niobium	Nb	16.	19.	20.	21.	35.	11.	0.0X	0.3	4.6	14.
42 Molybdenum	Mo	0.3	1.5	1.0	1.3	0.6	2.6	0.2	0.4	3.	27.
43 Technetium	Tc	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
44 Ruthenium	Ru	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
45 Rhodium	Rh	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
46 Palladium	Pd	0.12	0.02	0.00X	0.00X	D	D	D	D	D	D
47 Silver	Ag	0.06	0.11	0.051	0.037	0.0X	0.07	0.0X	0.0X	0.0X	0.1
48 Cadmium	Cd	0.X	0.22	0.13	0.13	0.13	0.3	0.0X	0.035	0.0X	0.4
49 Indium	In	0.01	0.22	0.0X	0.26	0.0X	0.1	0.0X	0.0X	0.0X	0.0
50 Tin	Sn	0.5	1.5	1.5	3.	X.	6.0	0.X	0.X	0.X	1.5
51 Antimony	Sb	0.1	0.2	0.2	0.2	0.X	1.5	0.0X	0.2	0.15	1.0
52 Tellurium	Te	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
53 Iodine	I	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	2.2	1.7	1.2	0.05	0.0
54 Xenon	Xe	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
55 Cesium	Cs	0.X	1.1	2.	4.	0.6	5.	0.X	0.X	0.4	6.
56 Barium	Ba	0.4	330.	420.	840.	1600.	580.	X0.	10.	190.	2300.
57 Lanthanum	La	0.X	15.	45.	55.	70.	92.	30.	X.	10.	115.
58 Cerium	Ce	0.X	48.	81.	92.	161.	59.	92.	11.5	35.	345.
59 Praseodymium	Pr	0.X	4.6	7.7	8.8	15.	5.6	8.8	1.1	3.3	33.
60 Neodymium	Nd	0.X	20.	33.	37.	65.	24.	37.	4.7	14.	140.
61 Promethium	Pm	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
62 Samarium	Sm	0.X	5.3	8.8	10.	18.	6.4	10.	1.3	3.8	38.
63 Europium	Eu	0.X	.8	1.4	1.6	2.8	1.0	1.6	0.2	0.6	6.
64 Gadolinium	Gd	0.X	5.3	8.8	10.	18.	6.4	10.	1.3	3.8	38.
65 Terbium	Tb	0.X	.8	1.4	1.6	2.8	1.0	1.6	0.2	0.6	6.
66 Dysprosium	Dy	0.X	3.8	6.3	7.2	13.	4.6	7.2	0.9	2.7	27.
67 Holmium	Ho	0.X	1.1	1.8	2.0	3.5	1.2	2.0	0.3	0.8	7.8
68 Erbium	Er	0.X	2.1	3.5	4.0	7.0	2.5	4.0	0.5	1.5	15.
69 Thulium	Tm	0.X	0.2	0.3	0.3	0.6	0.2	0.3	0.04	0.1	1.2
70 Ytterbium	Yb	0.X	2.1	3.5	4.0	7.0	2.6	4.0	0.5	1.5	15.
71 Lutetium	Lu	0.X	0.6	1.1	1.2	2.1	0.7	1.2	0.2	0.7	7.
72 Hafnium	Hf	0.6	2.0	2.3	3.9	11.	2.8	3.9	0.3	0.41	4.1
73 Tantalum	Ta	1.0	1.1	3.6	4.2	2.1	0.8	0.0X	0.0X	0.0X	0.8
74 Tungsten	W	0.77	0.7	1.3	2.2	1.3	1.8	1.6	0.6	0.X	X.
75 Rhenium	Re	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
76 Osmium	Os	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
77 Iridium	Ir	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
78 Platinum	Pt	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
79 Gold	Au	0.006	0.004	0.004	0.004	0.00X	0.00X	0.00X	0.00X	0.00X	0.0
80 Mercury	Hg	0.0X	0.09	0.08	0.08	0.0X	0.4	0.03	0.04	0.0X	0.8
81 Thallium	Tl	0.06	0.21	0.72	2.3	1.4	1.4	0.82	0.0X	0.16	0.8
82 Lead	Pb	1.	6.	15.	19.	12.	20.	7.	9.	90.	90.
83 Bismuth	Bi	D	0.007	D	0.01	D	D	D	D	D	D
84 Polonium	Po	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E

5 Astatine	At	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
6 Radon	Rn	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
7 Francium	Fr	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
8 Radium	Ra	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
9 Actinium	Ac	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
10 Thorium	Th	0.004	4.	8.5	17.	13.	12.	1.7	1.7	X.	7.
Protactinium	Pa	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
Uranium	U	0.001	1.	3.0	3.0	3.0	3.7	0.45	2.2	0.X	1.3
Neptunium	Np	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Plutonium	Pu	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F

* In some cases, only order of magnitude estimates could be made. These are indicated by the symbol X.

A: These elements are the basic constituents of the biosphere, hydrosphere, and atmosphere. Oxygen is also the most important element of the lithosphere, whereas carbon is important in sedimentary rock.

B: The rare gases occur in the atmosphere in the following amounts (volume per cent): He, 0.00052; Ne, 0.0018; Ar, 0.93; Kr, 0.0001; Xe, 0.000008. He is produced by radioactive decay of U and Th but is also lost to outer space. A^{40} is produced by the radioactive potassium 40 and is the major isotope of argon in the atmosphere.

The argon and helium contents of rocks will vary with their age owing to the effect of radioactive decay.

The estimated rare-gas contents of igneous rocks are (in cc per gm of rock): He, 6×10^{-5} ; Ne, 7.7×10^{-8} ; Ar, 2.2×10^{-8} ; Kr, 4.2×10^{-9} ; Xe, 3.4×10^{-10} .

C: These elements do not occur naturally in the Earth's crust.

D: The data for these elements are missing or unreliable.

E: All these elements are present as radioactive nuclides in the decay schemes of U and Th.

F: These elements occur naturally only as a consequence of neutron capture by uranium.

REKIAN AND WEDEPOHL, TABLE 2
ological Society of America Bulletin, volume 72