

Licence en Sciences et Techniques
(Option : Chimie Appliquée)
Mémoire de fin d'études

Sujet :

Evaluation du Plomb accumulé dans
l'espèce *Atriplex Nummularia*
évoluant sur un sol métallifère autour
d'une mine de galène.

Réalisée par :

Addi Nogot
Anass
Hmad Oubouni

Encadrée par : Mrani Driss

Co-encadré par : Merzougui

Présenté le /07 / 2019 devant le Jury :
-Pr.
-Pr.
-Pr . Mrani Driss

Année Universitaire : 2018/2019

DÉDICACES

Nous dédions ce travail à nos chers parents qui ont tout sacrifié pour qu'on puisse aboutir à terme de ce travail. Que Dieu les bénisse.

A nos frères et sœurs

A tous les membres de nos familles

A tous nos amis avec qui on a partagé des bons et des mauvais moments.

A toute la promotion 2018/2019 option Chimie Appliquée

REMERCIEMENT

Nous exprimons ici notre profonde gratitude à tous les membres de cette équipe.

Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidé à la réalisation de ce travail et en premier lieu, notre encadrant Monsieur **Driss MRANI**, professeur à la faculté des sciences et techniques d'Errachidia, pour son aide, sa disponibilité et ses précieux conseils. Nous remercions également les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'avoir acceptés de juger ce projet.

Nous profitons également de cette occasion pour remercier monsieur **Anass MERZOUGUI** pour leurs aides et conseils aux travaux pratiques. Nous tenons également à exprimer nos gratitude à nos familles, nos amis et tous ceux qui de près ou de loin nous ont apporté un soutien moral ou matériel.

SOMMAIRE:

Liste des figures

Liste des tableaux

Partie I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction générale

.....

II. Relation

Plante-métaux

Introduction

.....

1 - Mécanismes d'absorption

.....

a. Les métaux

essentiels

...

b. Les métaux nocifs

.....

c. Les étapes d'absorption des métaux lourds par les végétaux.....

i. L'absorption racinaire

ii. Translocation

2-Stress-métallique.....

a. Croissance métabolisme secondaire.....

b. Mesure du stress.....

i : Importance des formes réactives de l'oxygène dans la vie d'une plante.....

ii : Proline.....

III. Plantes hyperaccumultrices de métaux.....

1-

Phytoremédiation.....

a) Présentation des différentes stratégies de phytoremédiation.....

2-Exemples de plantes hyper accumultrices de métaux.....

a) *Noccaea caerulescens*

b) vallisnérie spiralé

c) Alyssum Murale

3-Utilisation des plantes hyperaccumulatrices **de métaux**

IV. Analyse quantitative des métaux dans les végétaux

1- Préparations des échantillons

a) Prélèvement

b) lavage

c) Séchage.....

d) Broyage.....

2- la

minéralisation.....

a) La calcination

b) la minéralisation par voie humide

i-Définition.....

ii- Les acides utilisés.....

3-Utilisation d'agents complexant organiques

.....

IV. Techniques d'analyse.....

1-Spectroscopie d'absorption atomique
(SAA)

2- **Extraction au point trouble** (Cloud point extraction CPE)...
.....

3-Plasma inductif :
(ICP).....

4-Spectrométrie UV-
Visible

Partie II : PARTIE EXPERIMENTALE

Suite ?

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique de l' Iridomyrmécine.

Figure2 structure chimique de la caféine

Figure 3 structure chimique de Molécules phénoliques

Figure 4 : Structure du resveratrol

Figure 5 : Fruits et légumes sont de bonnes sources d'antioxydants

Figure 6 : Feuille de chêne montrant (a) les symptômes d'oxydation de la chlorophylle et (b) les nécroses liées à la mort de cellules.

Figure 7 : exemple de plantes hyperaccumulatrices

Figure 8 : Photo *Noccaea caerulescens*

Figure 9 : Photo de vallisnérie spiralée.

Figure : 10 Photo de Alyssum Murale

Figure 11 : photo de l'Acide nitrique

Figure 12: Schéma du complexe organométallique EDTA

Figure 13: schéma d'un appareil de spectroscopie d'absorption atomique

Figure 14 : schéma d'un appareil de spectroscopie d'absorption atomique

Figure 15 : schéma de la méthode d'extraction du point de trouble (CPE)

Figure 16 : schéma du Plasma inductif.

Figure 17 : schéma d'un spectromètre UV-Visible

Figure 18 : schéma d'un appareil de spectroscopie d'absorption atomique N'existe pas dans le texte !!!?

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : les absorbances des étalons de plomb (0-20 ppm)

Tableau 2: les absorbances des étalons de plomb (0-8 ppm)

Tableau 3: les absorbances du plomb pour les échantillons A1, A1', A2 et A2'

Tableau 4: les absorbances du plomb pour les échantillons S1, S1', S2 et S2'

Tableau 5: les absorbances liées au taux de proline pour les échantillons A1, A1', A2 et A2

Tableau 6: Concentrations en plomb en mg/kg (MS) dans la plante Atriplex Nummularia et dans les sols

Tableau 7: Taux de proline en mg [proline]/g (MS) dans la plante Atriplex Nummularia

Revoir la numérotation et l'ordre des tableaux

Partie I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Introduction générale

La contamination de l'environnement par une concentration excessive de métaux lourds représente un risque agressif pour la santé humaine, animale et végétale [34].

Plusieurs industries sont responsables de cette contamination, telles que les industries et l'utilisation de plomb dans les peintures et l'essence [35], etc. Dans les plantes, par exemple, la toxicité des métaux affecte divers processus physiologiques tels que les relations entre l'eau, l'activité de la photosynthèse [36], le métabolisme de l'azote et le métabolisme d'absorption des nutriments [37].

Les effets nocifs des métaux lourds incluent également un retard de croissance et des modifications de l'activité de plusieurs enzymes [38].

Les métaux lourds et les métalloïdes sont des contaminants du sol particulièrement difficiles en raison de leur persistance dans l'environnement [39] et deviennent un grave problème environnemental, qui nécessite des solutions technologiques efficaces mais également raisonnables. Le plomb (Pb) est considéré comme l'un des métaux lourds préoccupant pour l'environnement et certaines recherches sur la dépollution se concentrent sur ce polluant [40].

Des techniques physiques et chimiques visant à éliminer le plomb des sols ont été développées [41]. Elles sont coûteuses et ne s'appliquent que dans de petites zones. Depuis quelques années, l'extraction de métaux lourds par les plantes, la phytoextraction, est une nouvelle procédure visant à réduire les niveaux de métaux lourds dans les sols. Elle implique l'utilisation de plantes vertes pour la réhabilitation des sols contaminés. La phytoextraction est une alternative aux techniques d'ingénierie de la récupération des sols, car outre son rapport coût-efficacité et la conservation de la structure du sol, elle a le moins de conséquences négatives sur l'environnement [42].

L'efficacité de la phytoextraction est toutefois limitée par la faible mobilité et la biodisponibilité de certains métaux lourds (notamment le Pb) dans les sols pollués [43]. De plus, l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices de métaux lourds (*Thlaspi* sp.. Par exemple) est associée à une croissance lente de la plante et à de faibles rendements en biomasse[44]. Parmi les plantes accumulatrices de métaux, la famille des halophytes *Atriplex* a été largement étudiée dans des expériences de laboratoire et a montré une capacité à absorber le plomb (Pb) et le cadmium (Cd) [45]. Cependant, aucune donnée n'est disponible sur le comportement de ces plantes dans des champs réellement contaminés [46].

L'objectif de ce projet de fin d'étude est d'essayer d'obtenir quelques éléments de réponses à cette question en étudiant l'absorption du plomb (Pb), l'expression de la proline dans un ensemble restreint de plantes *Atriplex Nummularia* évoluant autour d'une mine de galène en activité dans la région sud-est de Maroc (Tafilalet). La question étant examinée plus

amplement dans le cadre d'un doctorat national en cours actuellement dans le laboratoire d'Analyse Chimiques Environnement et Matériaux.

Ainsi, dans la première partie de ce manuscrit, partie bibliographique, nous exposerons quelques connaissances ayant trait à la relation plantes –métaux, les modes d'absorption, les effets nocifs des métaux sur la croissance et le métabolisme secondaire... Quelques méthodes et protocoles d'analyse quantitatives des métaux dans le milieu végétal : Absorption atomique notamment et la spectrométrie UV visible sont décrits.

La deuxième partie ; partie expérimentale ; décrit les différents protocoles d'échantillonnage, de préparation et d'analyse de l'élément plomb et de l'indicateur de stress « proline » dans quatre échantillons de l'espèce végétale *Atriplex Nummularia*. L'interprétation des résultats d'analyse clôture cette partie.

II : Relation Plante-métaux

Introduction:

Les plantes sont constituées d'eau, de molécules organiques et de nombreux éléments minéraux les Macro-éléments (N : 1 à 3 % ; S : 0,1 à 0,5 % ; P : 0,2 à 0,6 % ; Mg : 0,2 à 0,8 % ; K, 0,5 à 2 % ; Ca, 0,6 à 4 % ; SiO₂, 0,2 à 3 %) et les oligo-éléments (Fe, Zn, Br, Mn, Cu...).de teneur individuelle < 0,1 % Les besoins nutritifs des plantes proviennent essentiellement du sol, mais aussi de l'atmosphère (O₂, CO₂) ainsi que des apports réalisés par l'agriculteur sous forme d'engrais ou de matières organiques. C'est grâce à ses racines que la plante puise les éléments minéraux nutritifs dans le sol (absorption racinaire). En cas de déséquilibre nutritionnel, la plante subit une carence (manque d'un élément) ou une toxicité (excès d'un élément) qui se répercute sur la croissance et sur la production. La plante vit alors une situation de stress. Les espèces végétales n'ont pas toutes les mêmes besoins en éléments minéraux nutritifs, et réagissent différemment aux situations de stress. [1].

1- Mécanismes d'absorption

a : les métaux essentiels et oligoéléments

En plus des métaux essentiels Ca, Na, K,... les oligoéléments Cu, Zn, Mn, Fe .. sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques. Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe) [2]. Par exemple, le zinc (Zn), à la concentration du millimolaire, est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques (déshydrogénases, protéinase, peptidase) et joue un rôle important dans le

métabolisme des protéines, des glucides et des lipides. ~~Pour la substitution K^+/Na^+ mesurée par l'étude de l'absorption des éléments ou de la composition minérale de la plante entière est constatée chez les jeunes plantes les plus atteintes. [3]????~~

b : les métaux nocifs

Les métaux toxiques ont un caractère polluant avec des effets toxiques même à faible concentration. Ils ne sont pas essentiels au développement des organismes animaux ou végétaux, Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule végétale : c'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd) [4]. La teneur d'un sol en métaux lourds est donc une donnée essentielle. Mais plus important est de déterminer la fonction métallique bio disponible, c'est-à-dire la partie accessible au végétal. La biodisponibilité étant l'aptitude d'un élément trace à être transférée à la plante. Elle est à la fois liée à la nature du métal et à celle de la plante. [4]

c : Les étapes d'absorption des métaux lourds par les plantes :

i. L'absorption racinaire

Les métaux lourds présents dans la fraction aqueuse du sol pénètrent dans la plante par les racines sous la forme d'ions. Chaque espèce végétale a des besoins précis en ions, liés à son métabolisme propre et à des résistances variées aux éléments toxiques. La plante développe des mécanismes particuliers de transport d'ions, réglant ainsi les quantités absorbées selon ses besoins. [1] Le passage des métaux dans les parties aériennes (tiges, feuilles) [6] varie à la fois selon la nature du métal, celui de la plante, du pH et de la nature du sol ainsi que de la concentration des métaux dans le sol. Il est admis de nos jours que le plomb s'accumule souvent dans les racines, et migre moins facilement vers les parties aériennes de la plante que d'autres éléments comme le cadmium par exemple. [5]

ii. Translocation

Après leur absorption, les éléments sont transportés dans le xylème de la plante vers les parties aériennes. Cette opération est appelée **translocation**. Elle fait intervenir parfois des agents complexants ; acides organique, acides aminés. Chez certaines espèces, la **translocation** d'éléments toxiques est plus importante que chez d'autres, pouvant conduire à une accumulation des métaux dans les feuilles et les autres parties aériennes. On parle alors de plantes accumulatrices ou hyper accumulatrices de métaux. [7]

2-Stress-métallique :

Les plantes sont constamment soumises à des variations Environnementales (Chaleur excessive, froid excessif, pollution atmosphérique, sécheresse,.. etc). Ces changements peuvent engendrer un stress qui modifie l'homéostasie cellulaire par la production de formes réactives de l'oxygène. L'accumulation phytotoxique de ces différents radicaux oxygénés peut entraîner la mort de la plante ; cependant, ils ont été récemment identifiés comme des acteurs essentiels de la réponse au stress et leur rôle comme messenger secondaire est maintenant clairement établi. [8]

a. Croissance métabolisme secondaire

Les plantes se distinguent des autres organismes vivants par l'expression d'un métabolisme, au cours duquel sont synthétisées des molécules (métabolites secondaires) qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction. [9]

- **Fonction des métabolites secondaires.**

Ils ont des fonctions très différents, exemples:

-Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores (menthe par exemple) [9]



-Attraction des pollinisateurs



- Ils participent à des réponses allopathiques : (compétition entre les plantes pour la germination et croissance)



- *Types et origine des métabolites secondaires : [9]*

On peut identifier trois types de métabolites secondaires :

-**Terpénoïdes** : Ils dérivent de l'IPP (isopentenyl diphosphate), une molécule à 5 C. Ils sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de carbone.

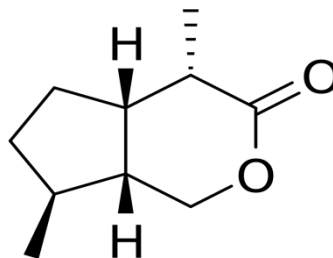


Figure 1 : Structure chimique de l' Iridomyrmécine

-**Alcaloïdes** : Ils dérivent de Acides aminés, La définition originale de « alcaloïde » est la suivante: *produits d'origine végétale, basiques, contenant azote et pharmacologiquement actif.*

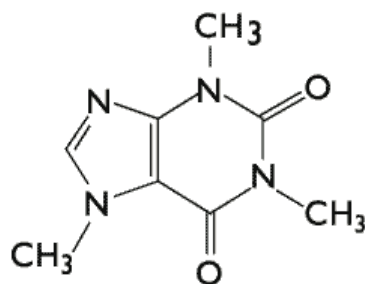
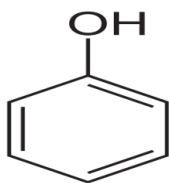
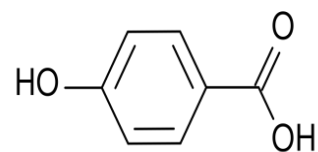


Figure 2 : structure chimique de la caféine

-**Molécules phénoliques** : Ils dérivent de Voie de l'acide Shiki Mique et acétate /malonate Les molécules phénoliques sont des composés qui contiennent un groupe phénol (anneau aromatique avec un groupe hydroxyle). Ils peuvent avoir plusieurs différents substituants. Dans l'air ces groupes sont facilement oxydés.



Phénol



Acide p-hydroxybenzoïque

Figures 3 : structure chimique de Molécules phénoliques

□ Rôle bénéfique antioxydant de ces métabolites.

- ✓ Les antioxydants peuvent éliminer les effets néfastes que les radicaux libres ont sur les cellules, et les gens qui mangent des fruits et légumes riches en polyphénols et anthocyanes ils ont un risque plus faible de cancer, les maladies cardio-vasculaires et certaines maladies neurologiques.

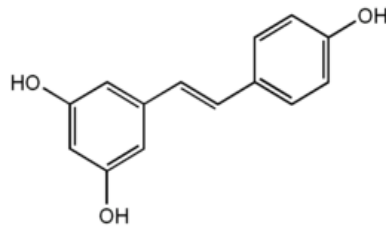


Figure 4 : Structure du resveratrol

- ✓ Les antioxydants se trouvent en quantités variables dans les aliments comme les légumes, les fruits



Figure 5 : Fruits et légumes sont de bonnes sources d'antioxydants

b : Mesure du stress.

Il existe plusieurs indicateurs de stress chez les plantes. Qualitatifs comme la taille, l'aspect et couleurs des feuilles, taches....etc. Mais aussi quantitatifs comme la mesure des formes réactives de l'oxygène (ROS), la proline... [9]

i : Importance des formes réactives de l'oxygène ROS dans la vie d'une plante [9]

Les ROS sont depuis longtemps reconnues pour leur importance dans la réponse des plantes aux contraintes environnementales. Certains symptômes observés en situation de stress d'origine biotique ou abiotique (par exemple, blanchiment des feuilles, nécroses) sont la conséquence d'une forte accumulation de radicaux libres oxygénés et d'une altération de l'homéostasie cellulaire. Ces symptômes traduisent à la fois une oxydation de la chlorophylle au niveau des feuilles, mais aussi la mort par nécrose de cellules isolées ou de groupements de cellules dans les différents tissus végétaux (Fig. 1). [9]



Figure 6 : Feuille de chêne montrant (a) les symptômes d'oxydation de la chlorophylle et (b) les nécroses liées à la mort de cellules. [10]

ii : Proline

La proline représente l'une des manifestations les plus remarquables des stress hydriques métallique et osmotiques.

L'accumulation de la proline, induite par les stress, peut être le résultat de trois processus complémentaires : **stimulation de sa synthèse, inhibition de son oxydation et/ou altération de la biosynthèse des protéines.**

L'accumulation de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress (osmotiques, hydriques, métalliques et thermiques). Certains auteurs pensent que les quantités accumulées pourraient être liées au niveau de tolérance aux stress. Elle pourrait, également, intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique ou constituer une réserve d'azote utilisée par la plante postérieurement à la période du stress. [22]

❖ Détermination quantitative de proline. [30]

L'accumulation de proline dans les plantes supérieures indique une perturbation de l'état physiologique, provoquée par un état de stress biotique ou abiotique. La teneur en proline libre peut augmenter lorsque les plantes sont exposées à la sécheresse, à la salinité, au froid, aux métaux lourds ou à certains agents pathogènes. La détermination

des taux de proline libre est un test utile pour surveiller l'état physiologique et pour évaluer la tolérance au stress des plantes supérieures

Trois méthodes sont généralement utilisées pour la détermination de la teneur en proline libre.

- **La mesure colorimétrique** : quantitative et fournit des données fiables sur la teneur en proline
- **L'analyse à base de HPLC** : peut être utilisée lorsque la concentration de tous les acides aminés doit être comparée.
- **Le dosage du papier à l'isatine** : est une méthode simple et convient au dosage de la proline dans un grand nombre d'échantillons.

III. Plantes hyperaccumulatrices de métaux

Les plantes hyperaccumulatrices sont des plantes capables d'absorber des quantités anormalement élevées de métaux lourds (zinc, cuivre, plomb, chrome, sélénium, arsenic, mercure, cadmium, nickel, argent, or, et platine). Ces métaux sont ensuite transférés vers les parties aériennes de la plante. ~~Et de décontaminer les eaux et les sols pollués.~~ Près de mille plantes hyperaccumulatrices ou tolérant les métaux lourds ont été identifiées et chacune d'elles a sa spécialité. ~~Et pour absorber les métaux lourds les plantes accumultrices ou hyperaccumulatrices utilisées un phénomène que s'appelle la phytoremédiation.~~ [23]



Figure 7 : exemple de plantes hyperaccumulatrices

1- Phytoremédiation :

C'est une technologie utilisant le métabolisme des plantes pour accumuler, transformer, dégrader, concentrer, stabiliser ou volatiliser des polluants (molécules organiques et inorganiques, métaux et radioéléments) contenus dans des sols ou des eaux contaminés.[24]

Parmi les stratégies de phytoremédiation, la phytoextraction utilise la capacité de certaines plantes à accumuler les polluants dans leurs tiges, feuilles ou racines. Ce procédé est intéressant pour extraire les métaux lourds (zinc, cadmium, nickel, cuivre, cobalt, plomb, thallium, etc.) car ces derniers sont des polluants non biodégradables.[24]

a-Présentation des différentes stratégies de phytoremédiation :

Phytovolatilisation : Transformation et dégradation de certains types de polluants en éléments volatils moins toxiques, qui sont ensuite libérés dans l'atmosphère par transpiration de la plante. [25]

Phytodégradation : Absorption et décomposition des contaminants par la libération d'enzymes et par des processus d'oxydation et de réduction. Les polluants dégradés, donc moins toxiques, sont ensuite incorporés dans la plante ou libérés de nouveau dans le sol. [25]

Phytostabilisation : Absorption et séquestration (ou immobilisation dans le cas de la rhizofiltration) des polluants au niveau des racines (rhizosphère). Objectif : réduire leur dispersion par le vent ou leur lessivage par les eaux de pluies, et limiter, par conséquent, leur migration et leur entrée dans la chaîne alimentaire ou les nappes phréatiques. [25]

Phytoextraction : Extraction, transport, accumulation des polluants dans les tiges et les feuilles. Les plantes sont dites accumulatrices. Les feuilles, ou la plante entière, sont alors récoltées par **quoi ??????**. [25]

2-Exemples de plantes hyperaccumulatrices

a - *Noccaea caerulea*

*Le tabouret bleu ou tabouret des bois dont le nom scientifique actuel est *Noccaea caerulea* est une petite plante herbacée de famille des Brassicacées. C'est une plante*

dite "spécialiste " l'une des rares à pouvoir survivre sur des sols, naturellement riches en certains métaux. [26]



Figure 8 : Photo de *Nocca caerulea*

❖ Teneur en métaux de *Nocca caerulea*

- Hyperaccumulatrice de **Zn, Cd, Ni** avec des concentrations différentes :

Le **Zinc** : 13 000 ppm le **Cadmium** : 120 ppm et le **Nickel** : 180 ppm.[26]

b- vallisnérie spiralée (*Vallisneria spiralis*)

La vallisnérie spiralée est une plante aquatique vivace de la famille des hydrocharitaceae d'origine subtropicale et présente dans une partie de l'Eurasie dans les eaux douces courantes ou stagnantes.

La vallisnérie spiralée répandue dans toutes les régions subtropicales du globe, dont la température peut varier de 18 à 30 °C. [27]



Figure9 : Photo de vallisnérie spiralée

❖ Teneur en métaux de vallisnérie spiralée

Plante hyperaccumulatrice de cadmium à la concentration de 1000 ppm. [27]

c- Alyssum Murale

Allssum murale, l'alysson des murs, est une plante à fleurs du genre Alyssum et de la famille des Brassicacées. [28]



Figure 10 : Photo d'Alyssum Murale

❖ Teneur en métaux d'Alyssum Murale

Plante de la famille des Brassicacées accumulatrice de nickel à la concentration de 7080 ppm environ [28].

3-Utilisation des plantes hyperaccumulatrices :

La phytoremédiation. Simplement dit, c'est l'utilisation des plantes et des micro-organismes avec qui elles ont des interactions pour nettoyer l'environnement. C'est un ensemble de techniques pouvant être implantées directement sur le site contaminé misant sur les plantes pour extraire, dégrader ou immobiliser les contaminants dans les sols, les sédiments, les boues ainsi que dans les eaux de surface ou souterraines et dans l'air.

IV. Analyse quantitative des métaux dans les végétaux

1-Préparations des échantillons

Cela consiste à extraire d'abord le métal ou les métaux à analyser de la plante, puis à déterminer leurs concentrations. La procédure fait intervenir plusieurs étapes :

a) Prélèvement-échantillonnage –préparation

La répartition des métaux dans les différentes parties de la plante est loin d'être uniforme. Le choix de l'organe à prélever (racines ; tiges, feuilles, fruits) et la constitution d'un échantillon moyen est une première étape essentielle du procédé.

b) Lavage

Il importe avant le dosage des éléments minéraux de solubiliser rapidement l'éventuel dépôt des sels minéraux provenant de l'évaporation des solutions sur l'organe étudié.

c) Séchage

Le séchage se fait très généralement à l'étuve électrique à une température de 80-85 °C avec forte ventilation. La montée en température doit être la plus rapide possible pour stopper les actions enzymatiques dans les tissus.

d) Broyage

Le broyage du végétal sec doit assurer une homogénéisation de l'échantillon sans entraîner de contamination ni de trop forts échauffements.

2- la minéralisation

Consiste à détruire la totalité de la matière organique formant le végétal pour n'obtenir enfin qu'une solution de matière minérale. Deux techniques sont généralement utilisées dans le cas des végétaux.

a) La calcination

Elle consiste à chauffer le végétal grossièrement broyé à températures relativement basses (typiquement 400 – 450 °C) pour oxyder la totalité de la matière organique. Les cendres obtenues doivent être blanches

b) Minéralisation par voie humide :

i- Définition

La matière organique est attaquée par un acide ou un mélange d'acides pouvant dissoudre l'élément (métal) à analyser

ii- Les acides utilisés

o Acide nitrique HNO₃

C'est un acide fort, un oxydant et un comburant ainsi qu'un agent de nitration capable de donner lieu à des réactions violentes.

En solution, même diluée, l'acide nitrique est un agent d'oxydation énergétique.



Figure 11 : photo de l'Acide nitrique

3-Utilisation d'agents complexant organiques

o EDTA

L'EDTA comporte six sites basiques, quatre correspondant aux bases conjuguées des fonctions carboxyliques et deux correspondant aux fonctions amines. Ces sites basiques sont également des centres ligands. C'est d'ailleurs sa principale caractéristique, son fort pouvoir chélatant (ou complexant) par lequel il forme des complexes métalliques très stables avec de nombreux ions métalliques [29]

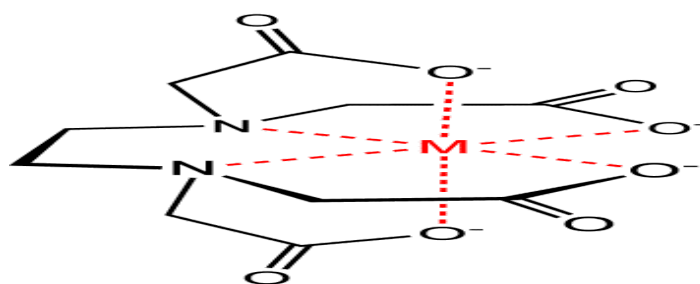


Figure 12 : Schéma du complexe organométallique EDTA métal

IV. Techniques d'analyse

1-Spectroscopie d'absorption atomique (SAA)

La spectrométrie d'absorption atomique (SAA) et l'émission de flamme (EF), encore appelée photométrie de flamme, permettent de doser dans pratiquement toute sorte

d'échantillon, un ou plusieurs éléments prédéfinis choisis dans une liste en contenant environ 70 (métaux et non métaux) [31]



Figure 13 : schéma d'un appareil de spectroscopie d'absorption atomique

o Principe

L'absorption des radiations électromagnétique des régions visible et UV du spectre par les atomes libres résulte d'un changement dans la structure électronique. On l'observe lorsque la radiation caractéristique (de résonance en général) d'un élément passe dans un nuage de vapeur atomique de l'échantillon. L'échantillon est vaporisé par aspiration de la solution dans une flamme ou par évaporation d'une surface chauffée électriquement. [31]

o La loi d'absorption en spectrométrie absorption atomique

L'intensité de l'absorption dépend directement du nombre de particules absorbant la lumière selon la **loi de Beer Lambert**, selon laquelle l'absorbance est proportionnelle au coefficient d'absorption spécifique a , au trajet b et à la concentration c .

$$A=abc$$

Où $A = \log I_0 / I$

I = intensité transmise de la source lumineuse

I_0 = intensité initiale de la source lumineuse

Cependant, en pratique, cette relation n'est vérifiée que dans un domaine de linéarité.

$A = f(c)$ est dans ce cas d'une droite.

o Appareillage

Le dispositif expérimental utilisé en absorption atomique se compose d'une source de rayonnements : la lampe à cathode creuse, d'un brûleur, d'un

nébuliseur, d'un monochromateur, d'un détecteur relié à un amplificateur, et un dispositif d'acquisition.

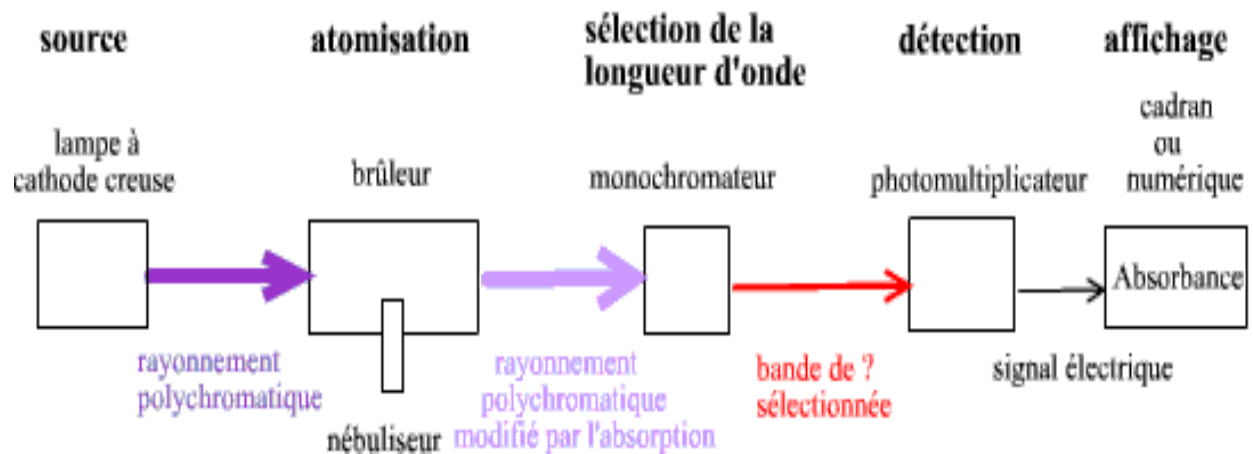


Figure 14 : schéma d'un appareil de spectroscopie d'absorption atomique

2- Cloud point extraction CPE

La méthode d'extraction utilisant des tensioactifs, appelée «extraction au point de trouble ou extraction par les micelles», offre une alternative aux systèmes d'extraction classiques en raison de la simplicité de ses étapes et de son absence d'exigence pour les solvants organiques. [32]

La méthode d'extraction du point de trouble (CPE) est basée sur la propriété des agents de surface non ioniques et zwitterioniques de se séparer en deux phases liquides lorsque leurs solutions aqueuses sont chauffées au-dessus d'une certaine température. [32]

Le CPE est une méthode simple, sûre, respectueuse de l'environnement, rapide et peu coûteuse pour la préconcentration et la séparation des métaux traces des solutions aqueuses, est récemment devenue un domaine de recherche attrayant et une alternative à l'extraction liquide-liquide. [32]

Description par schéma avec légende

3-Plasma inductif : (ICP)

Outre la flamme, les systèmes d'atomisation ont connu un grand progrès. Ainsi le four graphite, la vaporisation chimique, permettant d'atteindre des concentrations d'analyte de l'ordre du ppb (partie par billion). L'ICP plasma inductif utilise des sources d'atomisation, où la température peut atteindre 8000 °C, ce qui a pour avantage

d'éliminer complètement les interférences. D'où des résultats plus précis avec une sensibilité accrue.

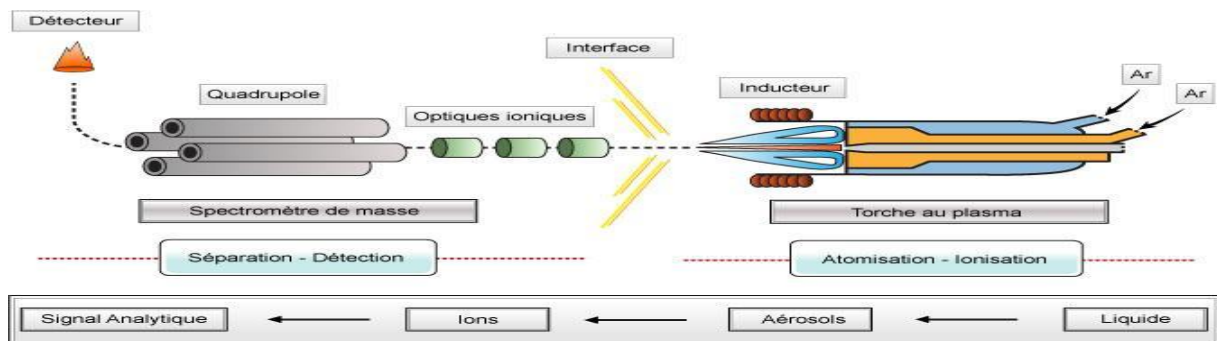


Figure 16 : schéma du Plasma inductif

4-Spectrométrie UV- Visible

La spectrophotométrie d'absorption moléculaire est une méthode d'analyse physico-chimique qui permet de déterminer aussi bien quantitativement que qualitativement des ions ou des molécules présents dans une solution, sans la modifier ou les altérer. Cette technique, utilisée en chimie et en biochimie utilise la propriété de ces ions ou molécules à pouvoir passer de l'état fondamental à un état excité par absorption d'un rayonnement de longueur d'onde adéquate. De la proportion d'intensité lumineuse absorbée par la solution, on déduit par comparaison avec des solutions étalons, la concentration de la substance absorbante.

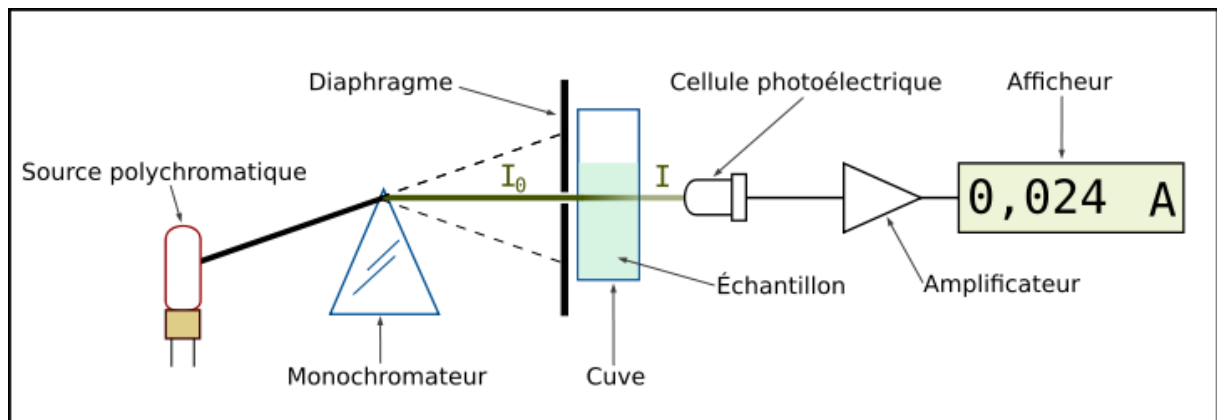


Figure17 : Schéma simplifié d'un spectrophotomètre UV-Visible

En solution diluée, la quantité de lumière absorbée est reliée à la concentration de l'analyse par la loi de BEER LAMBERT :

$$A = \epsilon c l$$

- L = longueur de la cuve (1 cm en général, avec une précision de 1%)

- C = concentration de la solution en mol/l
- ϵ = absorbance linéique décimale ou coefficient d'extinction spécifique qui dépend de la longueur d'onde. ϵ varie également en fonction des forces intermoléculaires et donc du solvant utilisé

Partie II : PARTIE EXPERIMENTALE

Dans cette partie nous nous sommes intéressés à l'absorption du Plomb par l'espèce végétale *Atriplex Nummularia* évoluant dans un sol naturellement minéralisé autour de la mine de Galène de Kba (1200 mètres environ au Nord-Est du barrage Hassan Eddakhil errachidia ; points GPS :32° 2' 15, 26" N; 4° 27' 0,6" W). L'étude a été effectuée sur quatre échantillons de plantes et quatre échantillons de sols. Deux techniques ont été mises en œuvre ; la spectroscopie d'absorption atomique (SAA) en mode flamme pour quantifier le plomb et la colorimétrie pour mesurer le taux de proline.

Matériels et produits chimique utilisés

- **produits chimiques**

- Tween 80
- Acide nitrique HNO₃ 69%
- Acide sulfosalicylique
- Acide orthophosphorique H₃PO₄ 98%
- Acide chlorhydrique concentré (HCl)
- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Nitrate de plomb
- D-Proline
- Toluène
- Ninhydrine
- Acide acétique glacial
- Eau bidistillée

- **Matériel**

- Broyeur (mortier en porcelaine)
- Balance de précision
- pH mètre
- Spectromètre d'absorption atomique de marque UNICAM 929
- Agitateur
- Spectrophotomètre UV VISIBLE double faisceau **JASCO**

II. Echantillonnage et protocoles de minéralisation

1-échantillonnage

Les plantes A1 et A1' sont situées au niveau de la mine (0 m), les plantes A2 et A2' sont situées à 800 mètres de la mine dans la direction Sud vers le barrage.

Uniquement les parties aériennes ont été prélevées et par la suite seulement les feuilles ont été analysées. Après élimination des grands gravats, les sols notés S1, S1', S2 et S2' ont été

prélevés autour des racines des plantes sur une profondeur de 20 cm. Les différents sites d'échantillonnage sont distants de 200 mètres.

2- Préparation des échantillons :

Les échantillons prélevés ont été lavés deux fois avec de l'eau bi distillée, séchés dans l'étude à 45 °C pendant 24 heures. Ces échantillons sont ensuite broyés à l'aide d'un mortier en agate afin d'obtenir une poudre fine.

3-minéralisation :

Deux protocoles d'extraction et de mise en solution des métaux à analyser ont été mis en œuvre : la calcination pour la plante et la minéralisation par voie humide en utilisant l'eau régale pour les sols ainsi étudiés. La teneur en plomb a été ensuite déterminée par spectrométrie d'absorption atomique en mode flamme.

a-minéralisation par voie sèche pour la plante

o Calcination

La décomposition par voie sèche (la calcination) est utilisée pour la plante étudiée, 1g d'échantillon est mis dans un four à moufle puis porté à une température de 550°C avec une montée en température de 2°C par minute. La cendre blanche obtenue est récupérée dans 1ml de HCl concentré, le mélange est ensuite filtré et ramené à 25ml par l'eau bi distillée.



Figure : photo de cendre de la plante

b-minéralisation par voie humide du sol

o Mode opératoire

A 1g de sol broyé, on ajoute de l'eau régale (3ml de HCl et 1ml de HNO₃), puis on chauffe le mélange à sec à 90°C, après refroidissement on récupère le mélange dans 5ml de HNO₃ 1N, après filtration on complète par HNO₃ 1N jusqu'à 500 ml.

III. Détermination du plomb sur les sols et plantes choisies par SAA :

Le nitrate de plomb $Pb(NO_3)_2$ est séché à une température de $105^\circ C$ pendant une heure. La solution mère de 1 g/l de Pb est préparée en dissolvant 1.6 g de nitrate dans 1l d'eau bi distillée.

1-Conditions spectrales d'analyse du plomb par SAA

Mode instrument	: flamme
Élément	: Pb
Mode spectromètre	: densité optique
Longueur d'onde	: 217.1 nm
Fente	: 0.5
Courant de la lampe	: 75 %
Nombre de mesures	: 3
Temps de mesure	: 4sec
Type de flamme	: air- C_2H_2
Mode d'étalonnage	: normal
Unité de concentration	: mg/l
Nombre d'étalons	: 4

2-Analyse des solutions: A1, A1', A2, A2', S1, S1', S2 et S2' :

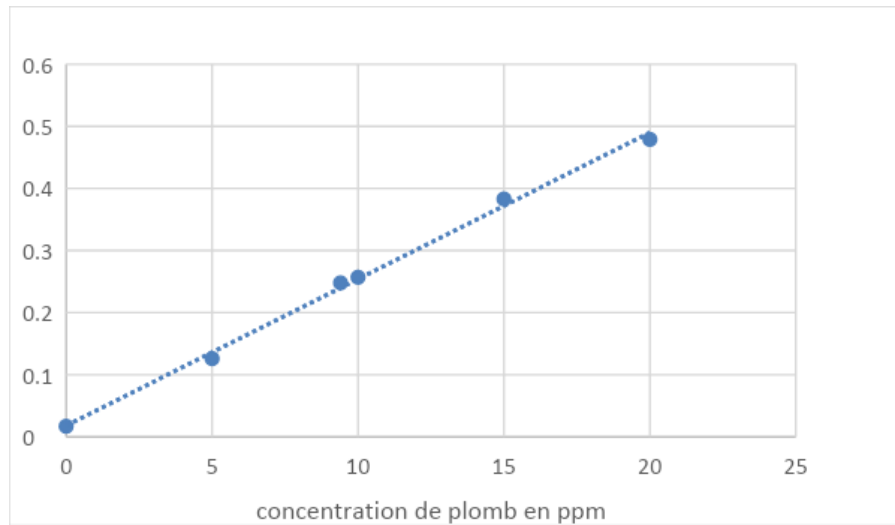
a-Courbe d'étalonnage :

Lors de l'analyse des solutions riches en plomb A1, A1', A2, A2', S1, S1', S2 et S2', la gamme d'étalonnage est comprise entre 0 et 20 mg/l. Elle a été préparée à partir de la solution mère par dilutions successives.

Tableau 1: les absorbances des étalons de plomb (0-20 ppm)

Concentrations de plomb en ppm	0	5	9.4	10	15	20
Absorbance	0.017	0.126	0.248	0.257	0.383	0.479

Figure: courbe d'étalonnage du plomb



b-Absorbances et concentrations du plomb dans les A1, A1', A2, A2', S1, S1', S2 et S2' :

Les absorbances et concentrations du plomb dans les échantillons sont donnés dans les tableaux suivants :

Tableau: les absorbances du plomb pour les échantillons A1, A1', A2, A2', S1, S1', S2 et S2' :

échantillons	A1	A1'	A2	A2'	S1	S1'	S2	S2'
Absorbance	0.256	0.189	0	0	0.363	0.241	0	0

Tableau: Concentrations en plomb en mg/kg (MS) dans les échantillons A1, A1', A2, A2', S1, S1', S2 et S2' :

échantillons	A1	A1'	A2	A2'	S1	S1'	S2	S2'
Concentration en mg/kg (MS)	252	181.3	ND	ND	365	235.2	ND	ND

ND : non détecté

3-Analyse des solutions pauvres en plomb : A2, A2', S2 et S2' :

Les conditions spectrales d'analyse du plomb pour ces solutions sont identiques à celles utilisées pour les solutions riches.

Le plomb contenu dans les solutions A2, A2', S2 et S2' n'étant pas détecté dans les conditions de mesure précédentes, une étape de pré concentration de l'analyte (Pb) s'est avérée

nécessaire dans ce cas. La technique d'extraction au point trouble (cloud point extraction CPE) décrite au paragraphe P, a été utilisée, Le surfactant utilisé étant le polysorbate 80 (Tween 80).

a-Extraction au point trouble :

- o Mode opératoire

La solution obtenue après calcination est neutralisée avec NaOH 0.1M, 5-15 ml de cette solution sont mis dans un tube à centrifugation. Le pH a été ajusté à 8.5 par l'addition de 5ml de tampon phosphate. Trois millilitres de la solution de Tween80 (4% v/v) sont ajoutés. Le tube est chauffé à 60°C pendant 60 min dans un bain marie, ensuite cette solution trouble a été refroidie pendant 20 min à 4°C dans un réfrigérateur pour faciliter la décantation. La phase décantée est dissoute dans 1mL de HNO₃ 1mol/l dans le méthanol pour diminuer la viscosité. Le volume final est ajusté à 5mL par la solution de HNO₃ 1M.

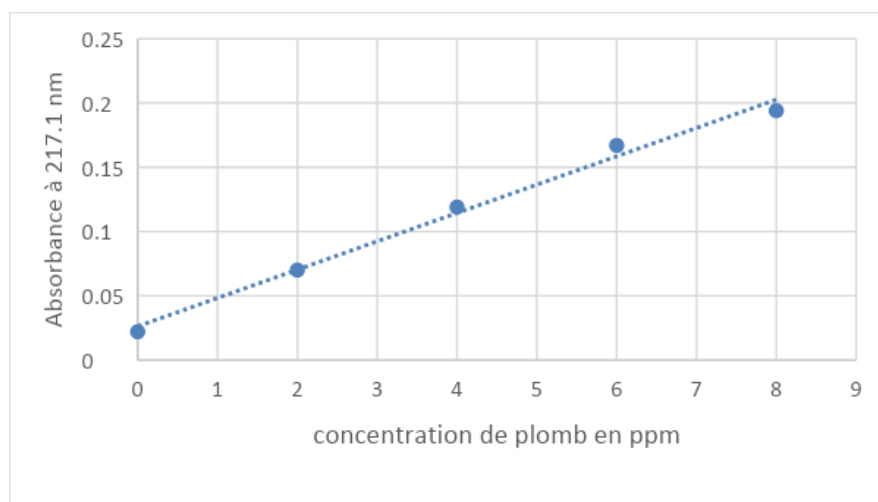
b-Courbe d'étalonnage :

Lors de l'analyse des solutions pauvres en plomb A2, A2', S2 et S2', la gamme d'étalonnage utilisée se situe entre 0 et 8 mg/L, cette gamme a été préparée à partir de la solution mère en faisant des dilutions successives.

Tableau: les absorbances des étalons de plomb (0-8 ppm)

Concentrations de plomb en ppm	0	2	4	6	8
Absorbance	0.022	0.07	0.119	0.167	0.194

Figure: courbe d'étalonnage du plomb



c-Absorbances et concentrations du plomb dans les solutions A1, A1', S1 et S1' :

Les absorbances et concentrations du plomb dans les échantillons pauvres en ce dernier sont donnés dans les tableaux suivants :

Tableau 3: les absorbances du plomb pour les échantillons A1, A1', A2 et A2'

échantillons	A2	A2'	S2	S2'
Absorbance	0,098	0,075	N.D	N.D

ND : non détecté

Tableau 6: Concentrations en plomb en mg/kg (MS) dans la plante *Atriplex Nummularia* et dans les sols

échantillons	A2	A2'	S2	S2'
Concentration en mg/kg (MS)	89.3	84.5	N.D	N.D

ND : non détecté

Taux de proline

Chez les halophytes, la proline est un marqueur intéressant pour évaluer leur résistance au stress salin ou bien au stress lié au taux de plomb dans notre étude.

1-Mode opératoire :

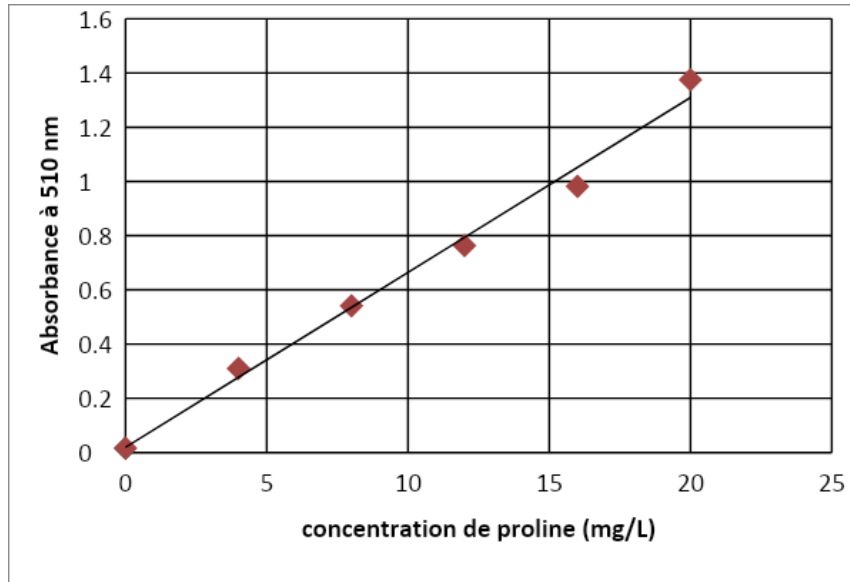
La quantité de proline a été calculée en utilisant la ninhydrine. 2 ml d'acide acétique glacial et 2 ml de ninhydrine (2,5% de ninhydrine dans de l'acide acétique glacial et acide orthophosphorique 6 M à 6:4 v / v) ont été ajoutés à 2 ml d'extrait d'acide sulfosalicylique. Ensuite, la solution a été incubée à 100 ° C pendant 1 heure et refroidie pendant 30 min à +4 ° C au réfrigérateur. La couleur étant développée, la solution a été extraite avec 4 ml de toluène et l'absorbance est lue à 520 nm. La quantité de proline a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage. La quantité de proline dans l'échantillon a été exprimée en mg [proline] / g de poids sec de la plante, une courbe d'étalonnage (0-20 mg / l) de Proline a été utilisée.

2-Courbe d'étalonnage de la proline

La gamme d'étalonnage se situe entre 0 et 16 mg/l:

Concentrations de proline en mg/L	0	4	8	12	16
Absorbance	0.016	0.31	0.541	0.763	0.982

Figure: courbe d'étalonnage de proline



3-Absorbances et taux de proline dans les plantes A1, A1', A2 et A2' :

Tableau X: les absorbances liées au taux de proline pour les échantillons A1, A1', A2 et A2'

Plantes	A1	A1'	A2	A2'
Absorbance	0.212	0,2	0,098	0,075

Tableau 7: Taux de proline en mg [proline]/g (MS) dans la plante *Atriplex Nummularia*

Plantes	A1	A1'	A2	A2'
Taux de proline	2.98	2.80	1.22	0.86

INTEPRETATION DES RESULTATS

A partir de ces résultats, on peut noter ce qui suit :

- Les taux de plomb admis par l'OMS est de 2 ppm et les concentrations trouvées dans nos échantillons de plante sont largement supérieures.
- Le taux est très élevé dans les échantillons se situant à 0m de la mine, cette concentration diminue ensuite de moitié dans les plantes se situant à 800 mètres de la mine.

- La concentration de plomb au niveau des sols des plantes A2 et A2' est voisine de 0, ce qui exclue le mécanisme d'absorption foliaire au détriment de l'absorption racinaire.
- Le taux normal de proline dans les plantes non stressées se situe en moyenne vers 0.2 mg [proline]/g (MS). Pour les plantes étudiées dans ce travail, le taux de proline est très élevé (0.86 -2.98 mg proline/g MS) et croit avec le taux de plomb dans les plantes. Ces plantes sont donc hautement stressées.

Une étude plus large menée dans ce laboratoire a montré une corrélation très étroite entre proline et quantité de plomb. Cela suggère que le plomb est le principal facteur de stress chez cette plante.

Conclusion générale

Dans le cadre de ce projet de fin d'étude, l'absorption de l'élément trace métallique ; Plomb a été étudiée sur quatre échantillons de la plante *Atriplex Nummularia* évoluant sur un sol naturellement métallifère, autour d'une mine de galène. La concentration en plomb a été déterminée par Absorption atomique.

Les résultats d'analyse indiquent un taux élevé en plomb, qui diminue quand même à mesure qu'on s'éloigne de la mine. Les effets de stress métallique chez les plantes étudiées ont été confirmés par les teneurs élevées en proline.

L'échantillon considéré dans le cadre de ce travail étant très restreint, aucune généralisation des résultats obtenus sur l'ensemble de la population d'*Atriplex* dans la zone étudiée ne saurait être justifiée. Une étude statistique sur un échantillon plus conséquent mérite donc d'être considérée

La mise en œuvre d'autres techniques d'analyse, notamment l'absorption atomique en mode four est nécessaire pour détecter et doser les faibles quantités de Plomb dans ces végétaux.

BIBLIOGRAPHIE

[1] :

<https://www.connaissances-savoirs.com/les-plantes-hyperaccumulatrices-de-metaux-lourds-jean-pierre-jost-yan-chim-jost-tse.html/>

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

[3] : Kabata-Pendias, A. and Pendias, H. (2001). Trace elements in soils and plants. CRC Press, London.

[4]: Baker, A.J.M. and Walker, P.L. (1989). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Heavy metal tolerance in plants - Evolutionary aspects. Shaw, A. (Eds). CRC Press, 155-177.

[5] : j.F., Lebrun, M., 1999. Plant response to metal toxicity. *PlantBiology and Pathology* 322, 43-54

[6]: Gaelle UZU speciation, transfert vers les végétaux et approche toxicologie.

[7] : Alloway, B.J., 1995. Soil processes and the behavior of heavy metals. In: Alloway, (Ed).

[8]: <http://france.elsevier.com/direct/CRASS3/>.

[9]: <http://www.doc-developpement-durable.org>.

[10]:H.Willekens,S.chamnongpol,M.Duvey,M.schraudner,C.langebartels,M.Van Mantage,D.Inze,w, Van camp catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants *EMBOJ*.16(1997)4806-4816.

[11]: *J.F. Dat, F. Van Breusegem, S. Vandenabeele, E. Vranová, M. Van Montagu, D. Inze, Dual action of active oxygen species during plant stress responses, Cell. Mol. Life Sci. 57 (2000) 779–795*

[12]: F. Van Breusegem, J.F. Dat, Reactive oxygen species in plant cell death, *Plant Physiol.* 141 (2006) 384–390

[13]: D.P. Maxwell, Y. Wang, L. McIntosh, The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 96 (1999) 8271–8276.

[14]: G. Vidal, M. Ribas-Carbo, M. Garmier, G. Dubertret, A.G. Rasmusson, C. Mathieu, C.H. Foyer, R. De Paepe, Lack of respiratory chain complex I impairs alternative oxidase

engagement and modulates redox signaling during elicitor-induced cell death in tobacco, *Plant Cell* 19 (2007) 640–655.

[15] : D.M. Rhoads, C.C. Subbaiah, Mitochondrial retrograde regulation in plants, *Mitochondrion* 7 (2007) 177–194

[16]: G. Noctor, C.H. Foyer, Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control, *Annu. Rev. Plant Biol.* 49 (1998) 249–279.

[17] : C.H. Foyer, G. Noctor, Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses, *Plant Cell* 17 (2005) 1866–1875.

[18] : K. Overmyer, M. Broché, R. Pellinen, T. Kuittinen, H. Tuominen, R. Ahlfors, Ozone-induced programmed cell death in the *Arabidopsis* radical-induced cell death1 mutant, *Plant Physiol.* 137 (2005) 1092–1104

[19] A. Levine, R. Tenhaken, R. Dixon, C. Lamb, H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the hypersensitive response, *Cell* 79 (1994) 583–593.

[20] J. Scandalios, Molecular genetics of superoxide dismutases in plants, in: J.G. Scandalios (Ed.), *Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1997, pp. 353–406.

[21] T. Henzler, E. Steudle, Transport and metabolic degradation of hydrogen peroxide in *Chara corallina*: model calculations and measurement with the pressure probe suggest transport of H₂O₂ across water channels, *J. Exp. Bot.* 51 (2000) 2053–2066.

[22]: [Www.israbat.ac.ma](http://www.israbat.ac.ma)

[23] : hppt://www.connaissances-saviors.com/les-plants-hyperaccumulatrice-des-metaux-lourds-jean-plerre-jost-yan-chim-jost-techtml

[24] : <http://www.lafranceagricole.fr/article/des-plantes-pour-extraire-les-metaux-lourds-du-sol>

[25] <http://www.cea.fr/multimedia/Documents/infographies-posters/defis-du-CEA-infographie-phytoremediation>

[26] [Www.phytoremediation.be/wp.../presentation -Ecol-veg-et Biogeoch-ULB-CEU ppt.](http://www.phytoremediation.be/wp.../presentation-Ecol-veg-et-Biogeoch-ULB-CEU-ppt)

[27]: <http://www.aquachange.fr/plant-fishe-aquarium.ptt?id=106>

[28]: [Www.alsagarden.com](http://www.alsagarden.com) (Accueil) Actualités

[29]: <https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/19245-edta-definition>

[30] : https://www.researchgate.net/publication/43132146_Methods_for_Determination_of_Proline_in_Plants

[31] : <https://docplayer.fr/6221005-Spectroscopie-d-absorption-atomique.html>

[32] : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914013001100>

[33] :

<http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/introduction-%C3%A0-la-spectroscopie-uv-visible>

[34] T. Amari, T. Ghnaya, et C. Abdelly, « Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction », *South Afr. J. Bot.*, vol. 111, p. 99-110, juill. 2017.

[35] A. Piechalak, B. Tomaszewska, D. Baralkiewicz, et A. Malecka, « Accumulation and detoxification of lead ions in legumes », *Phytochemistry*, vol. 60, n° 2, p. 153-162, mai 2002.

[36] R. Gopal et A. H. Rizvi, « Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish », *Chemosphere*, vol. 70, n° 9, p. 1539-1544, févr. 2008.

[37] M. Masidur Alam, S. Hayat, B. Ali, et A. Ahmad, « Effect of 28-homobrassinolide treatment on nickel toxicity in Brassica juncea », *Photosynthetica*, vol. 45, n° 1, p. 139-142, mars 2007.

[38] J. L. Uveges, A. L. Corbett, et T. K. Mal, « Effects of lead contamination on the growth of Lythrum salicaria (purple loosestrife) », *Environ. Pollut.*, vol. 120, n° 2, p. 319-323, déc. 2002.

[39] O. Barrutia, C. Garbisu, J. Hernández-Allica, J. I. García-Plazaola, et J. M. Becerril, « Differences in EDTA-assisted metal phytoextraction between metallicolous and non-metallicolous accessions of Rumex acetosa L. », *Environ. Pollut.*, vol. 158, n° 5, p. 1710-1715, mai 2010.

[40] J. Brunet, G. Varrault, Y. Zuily-Fodil, et A. Repellin, « Accumulation of lead in the roots of grass pea (Lathyrus sativus L.) plants triggers systemic variation in gene expression in the shoots », p. 8, 2009.

[41] M. Ghosh, « A REVIEW ON PHYTOREMEDIATION OF HEAVY METALS AND UTILIZATION OF ITS BYPRODUCTS », *Appl. Ecol. Environ. Res.*, vol. 3, n° 1, p. 1-18, juill. 2005.

[42] S. Rostami et A. Azhdarpoor, « The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils: A review », *Chemosphere*, vol. 220, p. 818-827, avr. 2019.

[43] D. C. ADRIANO, *TRACE ELEMENTS IN TERRESTRIAL ENVIRONMENTS: biogeochemistry, bioavailability, and risks of... metals*. S.l.: SPRINGER, 2002.

- [44] E. Meers, A. Ruttens, M. J. Hopgood, D. Samson, et F. M. G. Tack, « Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals », *Chemosphere*, vol. 58, n° 8, p. 1011-1022, févr. 2005.
- [45] S. Tandy, R. Schulin, et B. Nowack, « The influence of EDDS on the uptake of heavy metals in hydroponically grown sunflowers », *Chemosphere*, vol. 62, n° 9, p. 1454-1463, mars 2006.
- [46] S. S. Kachout, A. B. Mansoura, R. Mechergui, J. C. Leclerc, M. N. Rejeb, et Z. Ouerghi, « Accumulation of Cu, Pb, Ni and Zn in the halophyte plant *Atriplex* grown on polluted soil », *J. Sci. Food Agric.*, vol. 92, n° 2, p. 336-342, janv. 2012.
- [47] Q. Sun, Z. H. Ye, X. R. Wang, et M. H. Wong, « Cadmium hyperaccumulation leads to an increase of glutathione rather than phytochelatins in the cadmium hyperaccumulator *Sedum alfredii* », *J. Plant Physiol.*, vol. 164, n° 11, p. 1489-1498, nov. 2007.

