



HAL
open science

Décontamination des sols contenant des métaux lourds à l'aide de plantes et de microorganismes

Behrouz Eshghi Malayeri

► **To cite this version:**

Behrouz Eshghi Malayeri. Décontamination des sols contenant des métaux lourds à l'aide de plantes et de microorganismes. Biologie végétale. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 1995. Français. NNT : 1995NAN10353 . tel-01747587

HAL Id: tel-01747587

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01747587>

Submitted on 29 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



FACULTE DES SCIENCES

U.F.R. ENSTIB

Service Commun de la Documentation
de l'Université Henri Poincaré - NANCY 1
B.I.U. Sciences
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY (FRANCE)

THESE

—Présentée pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy I

en Biologie des Organismes

par

Behrouz ESHGHI MALAYERI

**Décontamination des sols contenant des métaux lourds
à l'aide de plantes et de microorganismes**

Soutenue publiquement le 21 octobre 1995, devant la Commission d'Examen

Membres du jury:

Président :	M LOUBINOUX, B.	Professeur à l'Université Henri Poincaré, Nancy I
Rapporteurs :	M. ROHR, R. M. GABALLAH, I.	Professeur à l'Université de Lyon 1 CNRS, ENSG-INPL Nancy
Examineurs :	M. KILBERTUS, G. M. MOUREY, A.	Maître de Conférences, ENSTIB, Université Henri Poincaré, Nancy I Professeur à l'Université Henri Poincaré, Nancy I (IUT)

"Protégez la terre, elle est comme votre mère"

MAHOMET "S"

A tous qui débattent pour sauver notre planète

AVANT PROPOS

Le présent travail a été réalisé au laboratoire de Microbiologie, à la Faculté des Sciences, Université Henri Poincaré, Nancy I (ENSTIB).

Je remercie Monsieur le Professeur KILBERTUS G. directeur du laboratoire de Microbiologie, de m'avoir accueilli au sein de son équipe, pour m'avoir encadré et orienté dans ce travail et pour son soutien matériel. Outre sa disponibilité, il a su me transmettre une partie de ses connaissances au cours de nombreuses discussions que nous avons eues.

J'adresse mes remerciements au gouvernement Iranien pour le soutien financier qu'ils m'ont apporté durant la période 1991 à 1995.

Je tiens à exprimer à Monsieur le Professeur LOUBINOUX B. directeur du laboratoire de chimie organique 4 à la Faculté des Sciences, Université Henri Poincaré, Nancy I pour le grand honneur qu'il m'a fait en assurant la présidence du jury.

Je remercie Monsieur GABALLAH I. Chargé de Recherche au CNRS et responsable de l'Équipe de Génie de Procédés pour l'Environnement, pour sa collaboration, ses conseils pertinents, et pour avoir accepté d'être rapporteur de ce travail.

Je remercie également Monsieur le Professeur ROHR R. Professeur de l'Interaction plantes-champignons et micropropagation à l'Université de Lyon 1 pour sa collaboration, ses conseils et pour avoir accepté d'être rapporteur de ce travail.

J'exprime ma gratitude profonde à Monsieur le Professeur MOUREY A. Professeur de laboratoire de microbiologie à IUT Université Henri Poincaré, Nancy I pour examiner ce travail et accepter de faire partie du jury.

Je remercie particulièrement Monsieur VANNIER G. Directeur de Recherches au CNRS, Muséum National d'Histoire Naturelle pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Ma reconnaissance va également à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail de recherche, l'équipe du laboratoire de microbiologie ENSTIB et de l'Équipe de Génie de Procédés pour l'Environnement, LEM.

Mes vifs remerciements vont également à Monsieur CEZARD R. pour m'avoir transmis une partie de ses connaissances et pour son aide en détermination des plantes, Monsieur CHENNOUF S. pour son aide et ses encouragements tout au long de ce travail, et Mlle. TANCHEL C. pour son attention à la correction de ce mémoire.

Enfin, je ne pourrais conclure sans remercier mon épouse qui m'a apporté un soutien et une aide sans faille qui m'ont permis de franchir les moments difficiles.

DÉCONTAMINATION DES SOLS CONTENANT DES MÉTAUX LOURDS, A L'AIDE DE PLANTES ET DE MICRO-ORGANISMES

RESUME

Certains métaux lourds à l'état de trace dans la nutrition des plantes, des animaux et de l'homme, non seulement ne sont pas dangereux mais sont nécessaires pour la vie. C'est en fait les quantités présentes et leurs formes chimiques qui rendent éventuellement ces éléments toxiques.

Dans le cadre de ce travail, on a présenté une technique biologique pour la dépollution des sols contaminés. On a sélectionné des champignons et des plantes susceptibles d'accumuler les métaux lourds et de diminuer leurs quantités dans les sols pollués. L'effet toxique des boues industrielles contenant des quantités élevées de métaux lourds a été estimé sur la croissance des champignons et des plantes.

L'étude de l'impact de l'effet de la concentration des métaux lourds sur les champignons montre que certains champignons métallo-tolérants peuvent survivre dans un milieu contenant jusque 30 g/l de métaux lourds. Pour des teneurs des métaux lourds de 12 et 30 g/l dans le milieu, une souche d'ascomycète (*Penicillium expansum*) peut accumuler environ 40 et 90 fois de métaux lourds par rapport au champignon témoin. Cependant, la quantité des métaux lourds retenue par ces micro-organismes, par rapport à leurs quantités totales du milieu, est négligeable.

Parmi les plantes testées, la tomate (*Lycopersicon esculatum*), l'arroche (*Atriplex hastata*) et la carotte (*Daucus carota var. sativa*) présentent une grande tolérance aux sols contenant des doses élevées de métaux lourds. Elles sont aussi capables d'accumuler certains métaux dans les parties hypogées (tomate et arroche) ou les épigées (carotte).

Certains plantes se développent spontanément dans les boues industrielles prouvant leurs capacités d'adaptation vis-à-vis des éléments polluants. Parmi ces derniers certaines espèces montrent une capacité d'accumulation jusque ≈ 11 fois celle de plantes témoins.

La réalisation de ces expériences permet une réduction de la teneur de 'l'agent nocif'. Ceci représente une première étape dans le processus de dépollution du sol et contribue à la protection de l'environnement.

MOTS-CLES : métaux lourds, fer, zinc, cuivre, nickel, chrome, cadmium, toxicité, accumulation, bio-accumulation, plantes, champignons, bio-détoxication, dépollution, sol, boue, environnement.

Decontamination Of Soils Containing Heavy Metals By Plants And Micro-Organisms

ABSTRACT

Traces of certain heavy metals in the nutrition of plants, animals and men are not dangerous and are necessary for life. It is the quantity present and the chemical nature that make those elements eventually toxic.

In the frame of this work, a potential biological technique is presented for the soil's decontamination. A selection of fungus and plants susceptible of accumulating heavy metals and decreasing their content in the polluted soils was used in this study.

The toxic effect of industrial sludge having high content of heavy metals have been estimated for the growth of fungus and plants.

The study of the impact of heavy metal concentration on fungus indicates that certain mushroom metal-tolerance could survive in solutions containing up to 30 g/ l. of heavy metal concentration. For heavy metal concentrations equal to 12 and 30 g/ l, a species of ascomycetes (*Penicillium expansum*) can accumulate heavy metals about 40 and 90 times of that of uncontaminated fungus, respectively. However, the quantity of heavy metal retained by these microorganisms, with respect to their total amount in the solution, is negligible.

Among the tested plants, tomatoes (*Lycopersicon esculatum*), atriplex (*Atriplex hastata*) and carrot (*Daucus carota var. sativa*) are tolerant with respect to soil containing high amounts of heavy metals. They are capable of accumulating certain heavy metals in the (tomatoes and atriplex) or in the roots (carrot).

Certain plants grow spontaneously on the industrial sludge demonstrating their capacity of accommodation with respect to polluted soils. Among these species some show an accumulation capacity of about 11 times that of uncontaminated ones.

The realization of these experiences allows the reduction of the 'harmful agent' content in the soil. This represents a first step in the process of soil decontamination and contributes to environment protection.

KEY WORDS : heavy metals, iron, zinc, copper, nickel, chromium, cadmium, toxicity, accumulation, biodecontamination, plant, fungi, bioremediation, décontamination, soil, sludge, environment.

INTRODUCTION

La pollution de l'environnement est devenue en quelques décennies un des problèmes majeurs qui conditionne l'avenir de notre civilisation. En effet, les dégradations de plus en plus étendues qui résultent de la pollution de l'écosphère compromettent la stabilité des écosystèmes affectés et par conséquent le renouvellement de ressources naturelles biologiques, voire minérales, considérées voici peu encore comme inépuisables et gratuites, telles l'air, l'eau et le sol.

La nature a les moyens de répondre à ces agressions progressivement et trouve une solution adaptée pour la survie de ses propres composants. Cependant, elle est malheureusement inadaptée aux concepts 'temporels' et 'financiers' de l'industrie. Les techniques industrielles traitant les polluants chimiques ont une efficacité limitée et conduisent le plus souvent à une accumulation importante de boues contenant des produits indésirables souvent toxiques pour l'environnement.

Si l'on considère une boue riche en métaux lourds, son lessivage par les eaux de pluies entraînera des quantités croissantes d'éléments, et en fonction du temps, ces derniers atteindront la nappe phréatique. C'est pourquoi il est nécessaire d'interposer entre les boues et le sol une bâche imperméable, empêchant cette migration pour une période plus au moins importante. Mais les bacs ainsi institués, ne peuvent pas non plus se multiplier à l'excès et lorsque leurs capacités sont atteintes, l'activité de l'entreprise peut être arrêtée.

Il nous semble possible d'utiliser des techniques biologiques, complément indispensable des techniques chimiques et industrielles traditionnelles, en vue de dépolluer les sols ou les boues. Ainsi on peut prolonger plus ou moins la durée potentielle d'utilisation de ces bacs. D'autre part, il est possible que les résidus du traitement biologique, dans certains cas, soient utilisés pour recycler les métaux lourds dans les installations actuelles de l'industrie métallurgique.

Les méthodes biologiques offrent une nouvelle alternative de traitement '*in situ*' pour certaines pollutions, elles sont de faibles coûts et privilégiées par rapport aux autres méthodes. Jour après jour les biotechnologies prennent une part croissante pour résoudre des problèmes environnementaux. De nouveaux marchés s'ouvrent à ces techniques déjà employées dans divers procédés de traitement de l'eau, des déchets ou des sols pollués.

Depuis plusieurs siècles, il a été démontré que la présence de certains métaux lourds (Cu ou autres) dans les sols conduit à une croissance et une coloration anormale des plantes (Agricola, 1556; Wild, 1968; Shewry *et al*, 1979; Wildeman, 1921; Bazargan, 1989).

Il nous semble intéressant dans la mesure où ces phénomènes résultent d'une accumulation de certains ' cations ' d'utiliser des végétaux pour détoxiquer les sols pollués par des métaux lourds.

Deux hypothèses de travail sont envisageables (Figure 1) :

- une concentration des éléments dans les tissus végétaux, hypothèse séduisante dans la mesure où les produits indésirables s'accumulent de façon préférentielles dans les parties épigées (fauchage) ou les parties hypogées (sarclage). On pourrait alors, par simple incinération, réduire de façon substantielle la quantité de métaux dans les boues et augmenter d'autant la durée d'utilisation de certains sites. Une adsorption ou une absorption par les micro-organismes (champignons) est également possible.
- une immobilisation ou une conversion des polluants par les micro-organismes.

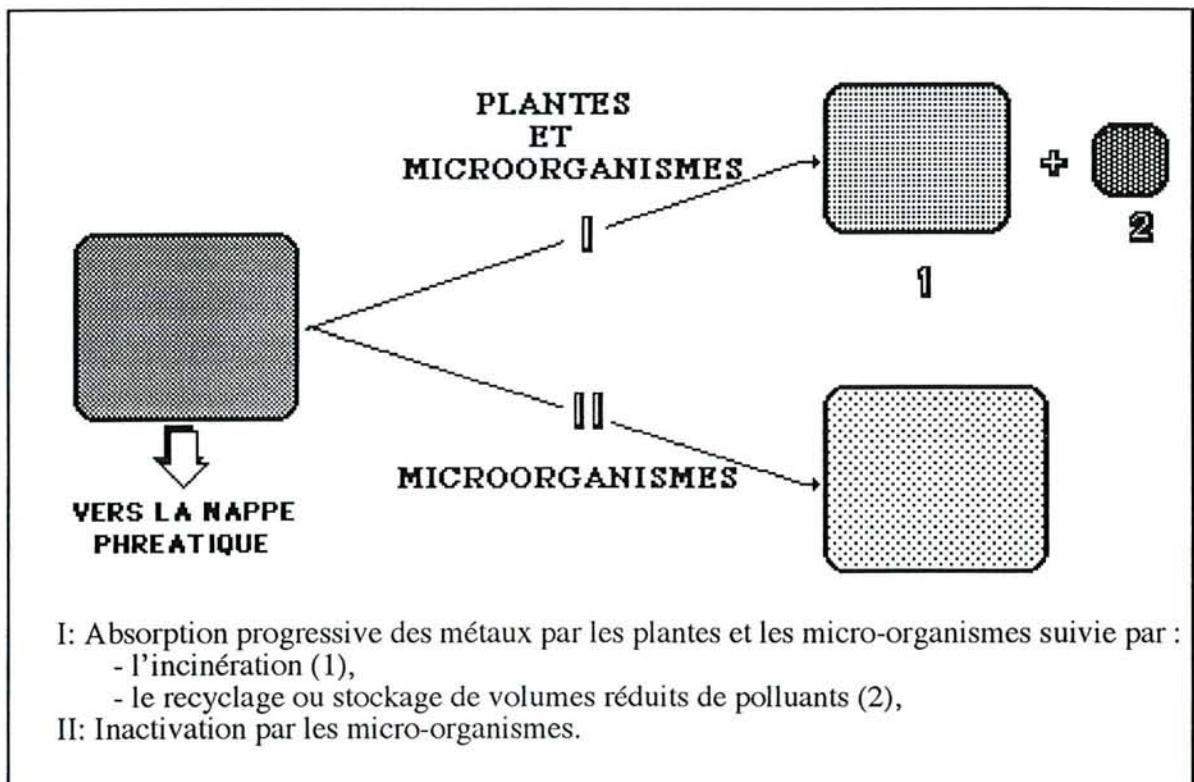


Figure 1 : Décontamination biologique potentielle des boues.

Les recherches actuelles portent sur les effets d'un ou plusieurs composés métalliques sur la croissance de champignons ou des plantes. Elles abordent rarement l'effet d'un nombre élevé de composés métalliques, comme c'est le cas pour la boue industrielle, sur la germination et la croissance des plantes et des champignons.

Ce travail est consacré à l'étude de l'effet de la présence de plusieurs composés de métaux lourds sur les plantes et les champignons. De plus, la répartition des métaux lourds parmi les différentes parties des plantes sera précisée.

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES METAUX LOURDS

I. 1. Définitions :

Depuis l'ancienne définition présentant les métaux comme 'les éléments rigides, malléables et polissables', on n'a pas encore trouvé une définition satisfaisante relative aux particularités de ce groupe d'éléments. Selon Furst (1977) 'Nous connaissons les métaux, mais nous avons peu d'information d'eux.' En d'autre terme, on connaît la chimie de métaux mais la connaissance de leur biochimie est plus faible (Beyersmann 1991).

Les premières définitions de métaux lourds ont reposé sur ce qualificatif de 'lourds' qui évoque une notion de poids spécifique, donc de densité. L'Encyclopédie de sciences chimiques (1964) a présenté ces éléments comme les métaux qui ont une masse volumique supérieure à 4 g/cm^3 . Lapedes (1974) réservait ce terme à ceux, dont la densité est approximativement 5 g/cm^3 ou plus, Fastner *et al* (1974) définissait les métaux lourds comme ayant une densité supérieure à 6. Burrell (1974) enfermait les métaux lourds à l'intérieur d'un rectangle délimité, dans le tableau de Mendeleïev, par le titane et l'hafnium d'une part, et l'arsenic et le bismuth d'autre part. Ces métaux ont une densité de 4,5 à 22,5. Selon Phipps (1981) un métal est dit lourd lorsque le nombre atomique (Z) est > 20 .

A cause des densités élevées de certains métaux toxiques de nombreux auteurs ont pris l'habitude d'utiliser le terme 'métaux toxiques' à la place de métaux lourds. Depuis plusieurs décennies, l'opinion générale confond métaux lourds et métaux toxiques. Mais aujourd'hui il est clair que certains métaux lourds non seulement ne sont pas toxiques mais qu'à l'état de traces, ont un rôle essentiel dans le métabolisme des vivants. En effet, ces éléments sont désignés comme oligo - éléments. D'autre part, certains métaux plus légers, par exemple le béryllium avec une densité de 1,85, sont connus pour leurs fortes toxicités.

I. 2. Propriétés physico-chimiques :

Pour étudier les mécanismes d'action des métaux lourds il est nécessaire de connaître leurs propriétés physico-chimiques et biologiques d'abord à l'état d'ion libre puis dans la formation des complexes organo - métalliques.

Tableau I. 1 : Propriétés physico-chimiques de quelques métaux lourds.

Métal	Symbole	Numéro atomique	Masse atomique	Valence	Point de fusion °C	Point d'ébullition °C	Densité
Chrome	Cr	24	51,99	6, 5, 4, 3 , 2	1 875	2 682	7,17
Fer	Fe	26	55,85	2, 3 *	1 535	3 000	7,90
Nickel	Ni	28	58,70	2 , 3	1 555	2 837	8,90
Cuivre	Cu	29	63,55	1, 2	1 083	2 595	8,94
Zinc	Zn	30	65,38	2	419	907	7,14
Cadmium	Cd	48	112,48	2	321	767	8,65

* Les chiffres en gras correspondent à la valence la plus courante.

Les métaux lourds possèdent un caractère électropositif qui leur confère la faculté de perdre facilement un ou plusieurs électrons pour former des cations de charge variable (Lee, 1979). Compte tenu de l'étendue du domaine englobant le terme de 'métaux lourds', nous limiterons notre propos aux éléments présents dans les boues utilisées: Fe, Zn, Cu, Ni, Cr et Cd.

Comme on peut le constater sur le tableau de Mendeleïev, la plupart des métaux lourds, sont situés dans le centre du tableau au niveau des métaux de transition. En se reportant au tableau I. 2, qui donne la structure électronique des éléments, on voit que la couche *M* possède trois niveaux d'énergie (*s*, *p*, et *d*).

Tableau I. 2 : Structures atomiques des certains métaux lourds.

Symbole	Z	K			L			M			N		
		1 <i>s</i>	2 <i>s</i>	2 <i>p</i>	3 <i>s</i>	3 <i>p</i>	3 <i>d</i>	4 <i>s</i>	4 <i>p</i>	4 <i>d</i>			
K	19	2	2	6	2	6		1					
Ca	20	2	2	6	2	6		2					
Sc	21	2	2	6	2	6	1	2					
Ti	22	2	2	6	2	6	2	2					
V	23	2	2	6	2	6	3	2					
Cr	24	2	2	6	2	6	5	1					
Mn	25	2	2	6	2	6	5	2					
Fe	26	2	2	6	2	6	6	2					
Co	27	2	2	6	2	6	7	2					
Ni	28	2	2	6	2	6	8	2					
Cu	29	2	2	6	2	6	10	1					
Zn	30	2	2	6	2	6	10	2					

Les niveaux *s* et *p* sont complets avec deux et six électrons. Le niveau *d*, qui sera complet avec dix électrons, ne commence à se remplir, dans la couche *M*, que lorsqu'il existe déjà deux électrons *s* sur la couche *N* suivante (de Sc à Zn). C'est une structure électronique particulière qui permet à ces éléments d'accueillir des électrons sur des orbitales périphériques d'hybridation (Kolodkine, 1972).

Il en résulte de nombreuses propriétés dont l'existence de plusieurs degrés d'oxydation, donc d'un potentiel redox, et la tendance à donner des liaisons de coordinence avec de nombreux groupes ligands*, donneurs d'électrons. Ces groupes de ligands sont très nombreux au niveau des acides aminés, et surtout des protéines. Évidemment, la substance chélatante dépend spécifiquement de l'oligo-élément considéré.

I. 3. Rôle physiologique :

Onze des oligo-éléments (Fe, Zn, Si, Cu, Mn, Ni, Co, Se, F, Cr, Mo, Sn, V, Al) sont des métaux et tous sont des métaux lourds (Morrison 1979). Ces éléments se trouvent à très faible concentration dans les tissus vivants. Cependant, ils y jouent des rôles importants dans les réactions métaboliques et fonctionnent d'ordinaire comme un centre coordinateur de la structure et de la stabilité des enzymes et des protéines (Goudot-perrot 1983). Jouant un rôle des plus variés dans les réactions biologiques et selon leur concentration, ils sont soit considérés comme métaux toxiques soit comme éléments nécessaires. Certains de ces éléments peuvent créer des liaisons métal - protéine et sont capables de modifier la structure tertiaire de la protéine (figure I. 1).

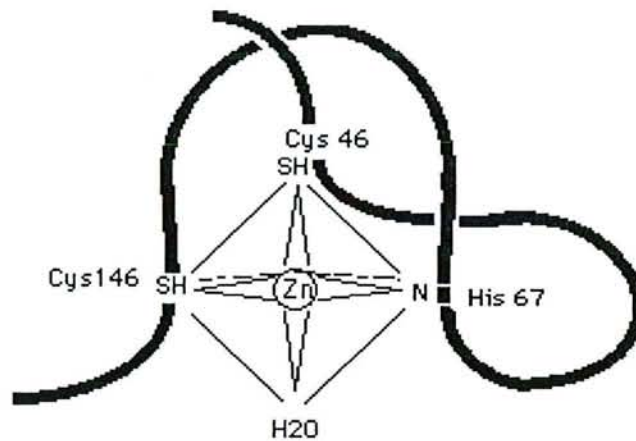


Figure I. 1 : Modification de la structure tertiaire de la protéine (alcool déshydrogénase) par le zinc (Chappuis 1991).

La figure I. 2 présente un exemple de l'action du zinc sur des protéines dont le rôle est de pénétrer dans la chaîne d'ADN à un endroit précis pour ouvrir cette chaîne et permettre la synthèse de l'ARN par l'ARN polymérase ADN dépendante (Eichhorn et al, 1986 Chappuis, 1991).

* Dans un groupe polyatomique (complexe), les atomes, radicaux ou molécules liés à l'atome central sont appelés *ligands* (Kolodkine, 1972).

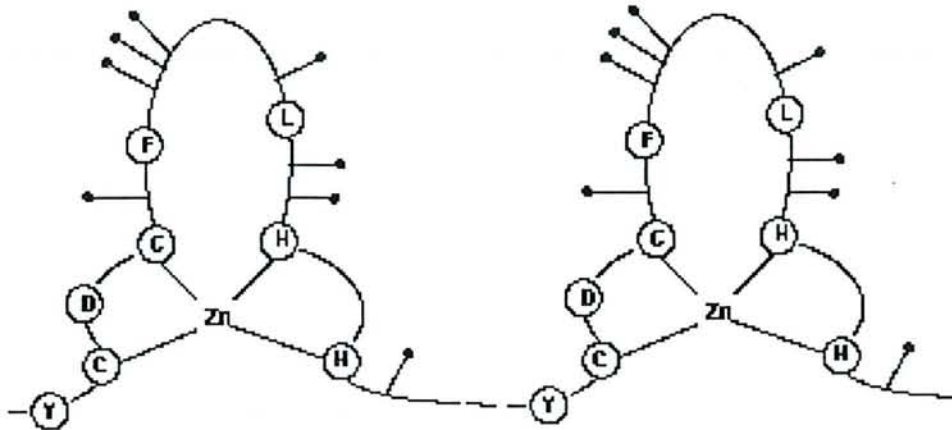


Figure I. 2 : Structure en doigts à zinc d'une protéine intercalante de l'ADN.

Certaines de ces protéines très importantes dans la régulation des gènes, sont des '*Zinc finger proteins*' ou protéines en doigts à zinc. Elles possèdent dans leur séquence des molécules de cystéine ou d'histidine régulièrement espacées. Ceci permet, en fixant du zinc, de prendre une structure opérationnelle en hélice alpha qui va s'intercaler dans la zone complémentaire de l'ADN. Cet effet de zinc explique son action sur la multiplication ou la différenciation cellulaire (Chappuis, 1991).

Un certain nombre de métaux lourds (Fe, Zn, ...) participent à la défense immunitaire. Leur mécanisme d'action fait intervenir des enzymes, mais aussi des molécules jouant un rôle dans la transformation des cellules lymphoïdes grâce à des récepteurs de membrane.

Les métaux lourds interviennent aussi dans la lutte contre les radicaux libres de l'oxygène, conséquence parfois heureuse, parfois toxique de la vie aérobie.

Bien qu'ils soient présents à l'état de trace, les métaux lourds peuvent renforcer la solidité de certains tissus.

Certains métaux lourds sont indispensables dans la nutrition des vivants. Ils ne peuvent provenir que du milieu extérieur. L'alimentation devra donc en apporter une quantité suffisante pour assurer de façon optimale l'ensemble des fonctions biologiques dépendant de chaque élément.

Bien que chacun des métaux lourds ait son rôle physiologique, l'effet le plus manifeste est leur action sur les enzymes et les réactions enzymatiques qui se font seulement en présence d'ions métalliques (Goudot-Perrot, 1983). Pour que dans le milieu cellulaire plusieurs réactions métaboliques puissent se produire simultanément, il faut que chacune des réactions soit 'isolée' des autres. Une telle configuration est assurée grâce à la formation de complexes enzyme - métal - substrat où la réaction catalytique se produit à l'intérieur de ce complexe ainsi 'isolé'.

Les métallo-enzymes, comme les indiquent leurs noms, contiennent éventuellement du cuivre, du zinc, du fer, du cobalt, ... Ces éléments ont un rôle important dans la composition des enzymes précitées.

Du point de vue des besoins en métaux, on peut classer les enzymes en deux catégories :

- les enzymes pour lesquelles il a été montré qu'un métal spécifique est un composant intégral,
- celles pour lesquelles un ou plusieurs éléments agissent comme activateur (Coïc, et al. 1989).

Le cation métallique intervient alors comme intermédiaire pour lier les molécules qui doivent interagir. Mais le plus souvent le cation métallique agit comme agent oxydo - réducteur.

En général les catalyses par certains métaux lourds sont comparables aux réactions entraînées par le métal seul et celle du système enzymatique. Cependant, ces réactions sont plus rapides en présence de catalyses que par un métal isolé et certains produits toxiques ne résultent pas de ces réactions enzymatiques. Par exemple, la catalyse de l'oxydation de l'acide ascorbique par Cu^{2+} est accrue approximativement 1 000 fois par l'enzyme cuprique (acide ascorbique oxydase) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) n'est pas généré par la réaction enzymatique. Ceci indique une différence possible entre les deux mécanismes (Coïc, et al. 1989).

I. 3. 1. Rôle physiologique du fer :

C'est un élément essentiel à tous les organismes vivants. Le fer participe au transport de l'oxygène et joue un rôle primordial dans la biodisponibilité de ce dernier. L'importance du rôle du fer sur la santé est reconnue depuis des millénaires. Les besoins en fer sont si importants qu'il est souvent classé parmi les macro - éléments, mais il a un rôle exclusivement oligodynamique. Le fer joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions biologiques. Chez les végétaux, il est indispensable à la synthèse de la chlorophylle, sa carence entraîne rapidement une chlorose (Richter, 1993).

Dans la plupart des cas, il agit au sein d'une molécule organique par le jeu du changement de valence qui lui permet de passer de façon réversible de l'état bivalent à l'état trivalent par la perte d'un électron. On le trouve donc au sein de catalyseurs biochimiques assurant l'oxydoréduction. Les plus fréquents sont les hémoprotéines, dont le groupement prosthétique ou hème est constitué de quatre noyaux pyrroles en cercle (Figure I. 3). Le fer est chélaté entre les quatre pointes azotées et peut encore contracter deux autres liaisons. Les cytochromes , la cytochrome oxydase, la catalase, les peroxydases, la léghémoglobine appartiennent à ce type (Heller, 1993).

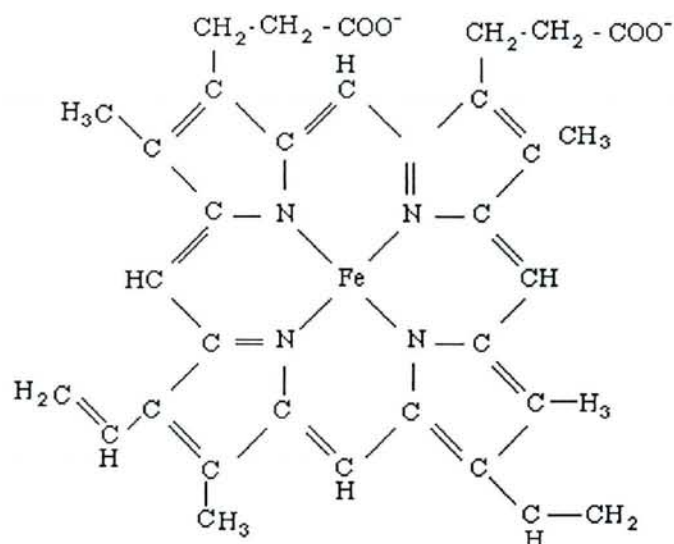


Figure I. 3 : Structure de l'hème (Coïc 1989).

La présence du fer comme composant enzymatique ou activateur des enzymes lui procure un rôle essentiel en physiologie : photosynthèse (ferrédoxine), respiration (cytochromes), métabolisme azoté (fixation de l'azote atmosphérique ou réduction de NO₃⁻), et par conséquent dans les activités cellulaires liées aux synthèses ou dégradations des composés organiques. La réduction du fer de Fe³⁺ en Fe²⁺ précède souvent son absorption par les cellules de la racine (Richter, 1993).

I. 3. 2. Rôle physiologique du zinc :

La découverte du rôle essentiel du zinc pour les être vivants est plus récente. L'importance du zinc pour les plantes supérieures a été démontrée il y a longtemps par les travaux de Mazé (1914).

Le rôle majeur du zinc chez les plantes est en relation avec l'auxine. Le zinc joue un rôle physiologique particulièrement important dans trois domaines :

- la synthèse des polynucléotides et des protéines,
- les métallos - enzymes,
- le métabolisme glucidique.

Certains enzymes activés par Zn²⁺ comme :

1. 'anhydrase carbonique' qui catalyse la formation de l'acide carbonique,
2. 'hydrogénase' qui facilite la synthèse de cystine,
3. 'carboxypeptidas A', présent dans le pancréas, qui provoque la libération de l'acide aminé terminal de la chaîne peptidique,
4. 'aldolase' qui entraîne la scission de l'acide fructopuranose-1-6-diphosphorique en acide glycéraldéhyde-3-phosphorique et acide dihydroacétone-phosphorique.

D'autre part, le zinc joue un certain rôle préventif dans l'intoxication par le cadmium. A long terme, le rapport Cd/Zn est un facteur important à considérer.

I. 3. 3. Rôle physiologique du cuivre :

La nécessité du cuivre pour les vivants a été découverte assez récemment. Il a été reconnu comme un cofacteur essentiel de la synthèse d'un grand nombre de protéines impliquées dans les réactions d'oxydoréduction, liant ou activant de l'oxygène moléculaire. Il est le coenzyme de nombreuses métallo-protéines comme l'ascorbate oxydase et tyrosinase (Favier, 1990).

Le cuivre est un composant indispensable de plusieurs métallo-enzymes dont l'activité est essentiellement oxydasique. Il joue également un rôle dans la synthèse de l'hémoglobine (Chappuis, 1991). Chez certains invertébrés le pigment transporteur d'oxygène est l'hémocyanine, qui a pour cation métallique central un ion cuivreux.

Le métabolisme du cuivre est complexe et encore mal élucidé. Son transport actif fait intervenir une protéine riche en groupes SH, la métallothionéine, qui fixe également le cuivre non absorbé et joue probablement un rôle antitoxique (Chappuis, 1991).

I. 3. 4. Rôle physiologique du nickel :

Son effet se manifeste au niveau de la formation des métallo - enzymes. Il peut agir comme cation métallique bioactivateur ou bioinhibiteur de certaines réactions métaboliques cellulaires (modifications des taux de chlorophylle, des protéines et des glucides).

On a constaté des effets de nickel sur les systèmes de transport cellulaire, par exemple : inhibition des canaux de Ca^{2+} , la stimulation de la respiration des mitochondries. La liaison de nickel avec l'ADN peut aussi empêcher sa réplication.

I. 3. 5. Rôle physiologique du chrome :

Le chrome peut être considéré comme un des éléments essentiels à la vie, car il intervient dans le métabolisme des animaux (coagulation) et des végétaux (photosynthèse).

Il joue le rôle de cofacteur de l'insuline, et sa carence dans l'alimentation est suivie d'une diminution de la tolérance au glucose, ce qui peut être corrigé par un apport en Cr^{3+} .

Les différentes formes du chrome n'ont pas les mêmes effets ni les mêmes sites d'action, il faut donc les étudier séparément. Les dérivés hexavalents du chrome ont un pouvoir oxydant puissant vis-à-vis des molécules organiques. Ils sont alors réduits en dérivés trivalents, ce qui est la forme la plus stable de cet élément (Gauglhofer, 1991).

I. 3. 6. Rôle physiologique du cadmium :

Le cadmium est un métal stable à température ordinaire et à sec, mais s'oxyde lentement à l'air en présence d'humidité. Il est insoluble dans l'eau et les solvants organiques. Par contre, il est facilement attaqué par les acides, même faibles, y compris les acides organiques présents dans les substances alimentaires.

Les rayons ioniques de Cd^{2+} et de Ca^{2+} sont égales à 0,97 et 0,99 Å, respectivement. Ils ont une électronégativité voisine et des affinités proches vis-à-vis de complexants (Boudene, 1993). La concurrence entre Ca^{2+} et Cd^{2+} à la surface de racines peut intervenir sur l'absorption de calcium pour les sols de pH élevé (Iwai et al., 1975). Une compétition entre Ca^{2+} et Cd^{2+} , pour les transporteurs de la sève brute, paraît donc tout à fait plausible.

Tyler et Mc Bride (1982) ont noté un abaissement du transfert du cadmium dans le haricot et le maïs à la suite d'une augmentation de la concentration de calcium dans la solution nutritive et sans observer de réduction de l'absorption de Cd^{2+} par les racines. Le cadmium remplace aussi Zn comme cofacteur de certaines réactions enzymatiques.

Le cadmium a une grande affinité pour les radicaux -SH, perturbant ainsi le métabolisme des aminoacides soufrés et l'action de nombreuses enzymes (ATPase, deshydrogénases anhydrase carbonique, carboxypeptidases, etc.). En outre, il active la tryptophan-oxydase et augmente le catabolisme de certaines protéines (Haguenoer, et al 1981).

I. 4. Toxicité :

N'importe quel élément inutile, utile ou indispensable, peut occasionner des difficultés du métabolisme chez l'ensemble des organismes vivants lorsqu'il est absorbé en trop grande quantité par rapport à la normale. La figure I.4 résume la relation entre la concentration d'un élément et son effet biologique (croissance ou biomasse de produit).

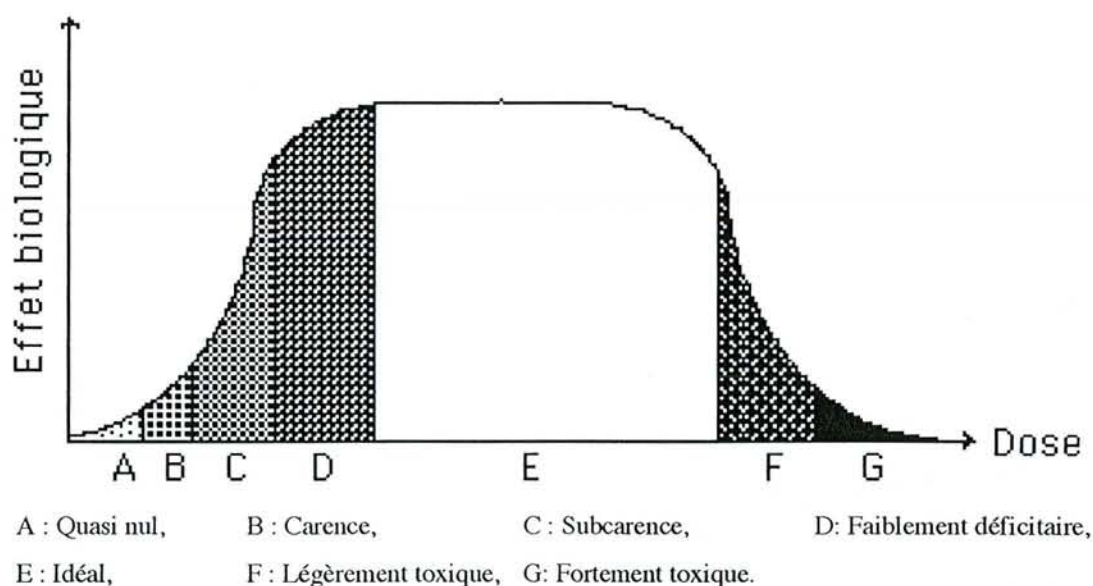


Figure I. 4 : Effet biologique des doses des éléments (d'après Chappuis. 1991).

Les vivants n'ont besoin que d'une petite quantité de métaux lourds (Tableau I. 3.). Il est donc possible que leur accroissement dans l'eau, l'air et le sol soit dangereuse et à haute dose aie des effets toxiques. Ceci est vrai pour les oligo-éléments et les autres.

Tableau I. 3 : Comparaison de la teneur en métaux lourds du corps humain (mg/ kg) (d'après Schroeder, 1967).

Élément	Teneur	Élément	Teneur
Fer	60	Manganèse	0,2
Zinc	33	Molybdène	0,1
Rubidium	4,6	Nickel	0,02
Strontium	4,6	Chrome	0,02
Cuivre	1,0	Cobalt	0,02
Vanadium	0,3	Uranium	0,001
Sélénium	0,2	Béryllium	0,0003

La toxicité des métaux devrait se manifester de façons très différentes puisque par exemple le cadmium ne rentre dans aucune fonction biologique connue alors que le Cu et le Fe sont les métaux essentiels au métabolisme cellulaire. Pourtant le Cu peut se révéler très nocif malgré son caractère indispensable à faible concentration (Bérail. 1991).

Les métaux comme l'argent, le cadmium, l'étain, le mercure, le plomb et aussi ceux ayant une électronégative particulière comme le cuivre, le nickel et le cobalt ont une forte tendance à agir avec les groupes aminés et sulfidriles. Les enzymes peuvent être dégradés par ces métaux et perdent leur potentiel d'action.

D'une manière générale, la toxicité des éléments métalliques vis-à-vis du monde vivant varie selon plusieurs facteurs, principalement la forme sous laquelle se trouve l'élément et les espèces cibles. D'après la classification des éléments par Berrow et al. (1991), on peut résumer la nécessité et la toxicité de certains métaux lourds, comme suivant (tableau I. 4)

Tableau I. 4 : Rôle physiologique de quelques éléments sur les vivants.

Métaux	Ep	Ea	Tp	Ta
Fer	*	*		*
Zinc	*	*	*	*
Cuivre	*	*	*	
Nickel	*	*		
Chrome		*		
Cadmium			*	*

Ep : Essentiel pour les plantes, Ea : Essentiel pour les animaux,
 Tp : Toxique pour les plantes, Ta : Toxique pour les animaux.

En ce qui concerne le végétal, la toxicité par les éléments traces est fonction de la solubilité des composés métalliques, qui elle même dépend de la forme chimique, comme dans le cas du cuivre et de l'aluminium (Juste 1970).

La phytotoxicité des métaux lourds peut être occasionnée directement ou indirectement sur tous les processus physiologiques végétaux (Woolhouse, 1983). Les effets toxiques préliminaires sur les plantes sont : la catalyse des enzymes (Van Assche et al. 1988; Petroic et al., 1990), la dégradation de la membrane cellulaire (Tu et al., 1987) et l'inhibition de la croissance des racines (Wilkins, 1978). Ces changements causent de nombreux effets secondaires comme l'inhibition de photosynthèse (Singh, 1987) et d'absorption des éléments minéraux (Oberlander, 1978), le déséquilibre hormonal (Barcelo et al., 1986) et certaines déformations structurales des plantes (Vazquez, 1987).

Les métaux comme le zinc, le cadmium, et le cuivre ont des caractéristiques électroniques similaires. Ils manifestent différentes propriétés chimiques avec les ligands biologiques et peuvent causer différents effets biologiques.

Lorsqu'un métal est présent, sous forme assimilable, en quantité très importante, la plante s'enrichit de cet élément sans que la production de matière sèche augmente (il s'agit d'une consommation de luxe). Néanmoins, au-delà d'un certain taux, le métabolisme végétal est réduit, le rendement de la culture baisse et la mort de la plante peut survenir dans les cas extrêmes (zone F de la figure I. 4).

I. 4. 1. La toxicité du fer :

Le fer en excès au niveau de la membrane mitochondriale interne active la réduction ferrique par la réductase ferrique qui, en présence d'oxygène transforme le Fe^{3+} en Fe^{2+} . Ceci a pour effet immédiat l'arrêt de la chaîne des cytochromes et paralyse la production d'ATP en aérobiose (Stokinger, 1981a ; Haguenoer, 1982). Il en résulte un important déficit de production d'énergie et une acidose métabolique par accumulation de lactate et de citrate.

I. 4. 2. La toxicité du zinc :

Le zinc est toxique pour la microflore des rivières, les huîtres, les alevins et les poissons eux mêmes. L'effet inhibiteur sur la végétation n'est pas à négliger. Le zinc et le cadmium sont l'objet d'un phénomène d'accumulation dans les chaînes alimentaires (poissons et surtout coquillages) (Chappuis, 1991). Les sels de zinc sont nocifs pour l'homme s'ils sont administrés par voie orale. Mais en faible dose, le danger d'intoxication est inexistant (Lauwery, 1982).

I. 4. 3. La toxicité du cuivre :

Malgré la grande réactivité des ions cupriques, la toxicité du cuivre est relativement faible. A forte dose le cuivre devient toxique, d'où son usage en viticulture (comme fongicide), du fait qu'il a une affinité particulière pour l'azote des peptides (liaison de coordination), ce qui entraîne l'inactivation des enzymes contaminées.

Les effets de toxicité chronique (cardio-vasculaires et hématologiques) ont été observés au cours des expérimentations sur les animaux (Mac Donald, 1984 ; Kumar, 1987) et par un apport excessif dans l'alimentation du bétail.

Chez l'Homme la pathologie du cuivre est soit hypercuprémie comme dans le cas des maladies génétiques de Wilson (accumulation de cuivre dans le foie et les noyaux gris centraux) soit hypocuprémie comme dans le cas des maladies de Menkes (carence de cuivre) (Chappuis, 1991).

I. 4. 4. La toxicité du nickel :

Le nickel, à doses relativement élevées, produit une toxicité qui se traduit par la modification de plusieurs paramètres.

Chez certaines bactéries du sol, on enregistre une régression du métabolisme, une inhibition de la croissance et des changements morphologiques. En ce qui concerne les végétaux, on a remarqué des sensibilités différentes suivant les espèces. Néanmoins, des concentrations toxiques induisent une diminution de croissance, une inhibition de l'activité cellulaire générale avec diminution de la chlorophylle et modifications du taux des macromolécules (diminution des protéines et augmentation des glucides).

Le nickel est considéré comme un élément cancérigène (des fosses nasales, des poumons et de larynx). Ceci a été décelé chez les travailleurs des usines d'extraction du nickel (Lauwerys et al 1982). Même par contact externe, les sels de nickel peuvent entraîner des eczéma chez les ouvriers en galvanoplastie (Goudot-Perrot, 1983).

I. 4. 5. La toxicité du chrome :

Le chrome métal est biologiquement inerte et sans effets toxiques chez l'Homme. Les composés trivalents (Cr^{III}) n'ont pas une toxicité bien établie. Ces composés sont les plus stables et ne sont que faiblement absorbés. Le chrome trivalent est la forme courante du chrome. Les composés hexavalent du chrome sont responsables des effets toxiques associés. Ils sont à l'origine de la plupart des intoxications aiguës ou chroniques (Douglas et Lee, 1972).

Les effets cytotoxiques des composés du chrome (CaCrO_4 , NaCrO_4 , ...) altèrent les moyens de défense du poumon (Hagunoe, 1982 ; Johansson, 1986, 1987). Le chrome hexavalent est le second allergène après le nickel.

Les premiers cas de cancer dus aux dérivés du chrome ont été observés : en Écosse en 1890 chez les ouvriers de la peinture et en 1911 en Allemagne chez les travailleurs de la galvanoplastie par le chrome.

Les résultats de nombreuses études épidémiologiques et les descriptions des cas isolés permettent de conclure que les composés trivalents ne sont pas cancérogènes. Par contre, ceux moyennement solubles du chrome hexavalent sont nettement cancérogènes et les composés peu solubles sont fortement suspectés. Les dérivés solubles sont mutagènes dans les études expérimentales mais ne sont généralement pas cancérogènes (Chapuis, 1991).

Les ions hexavalents du chrome traversent la membrane cellulaire puis se transforment en métabolites trivalents pouvant se lier aux protéines (surtout aux nucléoprotéines et à l'ADN, mais également au niveau de l'ARN cytoplasmique). Ces métabolites sont piégés à l'intérieur de la cellule car les cations de Cr^{III} ne traversent pas la membrane cellulaire et s'accumulent à l'intérieur de la cellule. Le risque mutagène augmente avec la quantité de produit accumulé.

I. 4. 6. La toxicité du cadmium :

Actuellement, on pense que le cadmium est un élément non essentiel pour la vie. La concentration dans le corps des êtres vivants est normalement très faible.

Le cadmium diminue l'activité de systèmes enzymatiques. En effet, il exerce une action concurrente à celle du Ca^{2+} et du Ba^{2+} sur les systèmes enzymatiques de la contraction musculaire (Toda, 1973), de même vis à vis du Fe^{2+} et du Cu^{2+} , il agit comme cofacteur des monoamineoxydases I.

Il exerce aussi une action concurrente à celle du Ca^{2+} et du Ba^{2+} sur les systèmes enzymatiques de la contraction musculaire compétition vis-à-vis du Fe^{2+} et du Cu^{2+} comme cofacteur des monoamineoxydases et de ce fait, il diminue l'activité de ces systèmes enzymatiques (Glauser, 1976). Il inhibe :

1. la β - oxydation des acides gras,
2. l'activité de la RNA polymérase,
3. l'hydroxylase des hydrocarbures aromatiques des microsomes hépatiques,
4. la 1-hydroxylation du 25-hydroxy-cholécalciférol au niveau du rein,
5. la phosphorylation oxydative au niveau des macrophages alvéolaires (Haguenoer, 1981).

L'affinité du cadmium pour les sites azotés explique sa liaison particulière avec la métallothionéine. Ce dernier a un rôle important dans l'intoxication des vivants.

CHAPITRE II

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

II. 1. La pollution par les métaux lourds :

En évoquant la pollution et les problèmes d'environnement, la toxicité des métaux lourds est toujours en cause, tandis qu'on oublie leur rôle nécessaire à la vie. En effet certains métaux lourds à l'état de trace (oligo - éléments) sont indispensables à la survie des plantes et des animaux. Selon les quantités des éléments présents et leurs formes chimiques, il est possible de convertir leurs effets bénéfiques en toxiques.

Les métaux lourds sont naturellement présents dans le sol, l'eau, l'air, les plantes, etc. Bien que la présence des métaux lourds dans le sol est dépendante de type des roches-mère, à présent les plus importantes sources de métaux dans l'environnement sont les déchets industriels, les engrais chimiques, les pesticides, les fongicides, etc. (Berrow et Burridge, 1991).

Avant l'apparition de l'ère industrielle, la balance de métaux dans le cycle naturel était plus au moins en équilibre. Suite à des incidents naturels comme les éruptions volcaniques ou le déplacement des couches terrestres, les systèmes naturels contrôlant ce cycle, permettaient un retour progressif à l'équilibre. Au cours des dernières décennies, les industries ont généré des pollutions physico-chimiques et biologiques importantes. Ceci change l'équilibre régional et parfois mondial et ces changements sont tels que l'écosystème ne peut plus tolérer l'accumulation de ces polluants.

D'autre part, le développement de l'agriculture conjointement à celui de l'industrie ont fait apparaître des menaces de pollution des terres agricoles par différents éléments traces dont les métaux lourds (Godin, 1983). L'apport fait par l'agriculture de pesticides, d'engrais minéraux (Gunnarsson, 1983) et plus récemment, de résidus d'origine urbaine ou industrielle augmentent localement les possibilités d'accumulation de ces éléments dans les sols et leur concentration dans la chaîne alimentaire. Ceci nécessite la décontamination du sol afin de protéger les ressources d'eau et l'alimentation.

Les paragraphes suivants résument les sources de quelques métaux lourds.

II. 1. 1. Le fer :

Le fer occupe la quatrième place juste après l'aluminium dans la classification d'abondance des éléments dans la croûte terrestre. Le fer est présent dans des minerais comme oxydes, hydroxydes ou sulfures. Les déchets majeurs de l'industrie sont constitués par des hydroxydes et chlorures de fer. Les propriétés dés herbantes (sulfate ferreux), pesticides, contre la chlorose (sulfate ferrique) et fertilisante (phosphate ferrique) sont exploitées en agriculture.

II. 1. 2. Le zinc :

Le zinc est le plus abondant après le fer. Il est largement répandu dans la croûte terrestre. Le minerai le plus répandu est la sphalérite ou la blende (sulfure de zinc). Ce minerai contient également du fer, du cadmium, ... qui sont à l'origine de la toxicité au cours de l'extraction du zinc (Stokinger, 1981; Haguenoer, 1982). Le déchet majeur de cette industrie est la jarosite. Ce solide est dangereux pour l'environnement à cause de la présence de Cd, Pb, Zn, etc.

Les sources d'exposition sont présentes dans toutes les applications du zinc (industrielles, agricoles, médicales, vétérinaires, ...). Les mines de zinc et de plomb, le raffinage du zinc, la galvanoplastie, les engrais phosphatés, les insecticides, les pigments constituent des sources de pollution par le zinc (Lauwery, 1982).

II. 1. 3. Le cuivre :

Le cuivre est utilisé depuis l'âge de bronze car il existait à l'état natif. Il se trouve sous forme de sulfures cuivreux CuS et cuivrique Cu_2S , d'oxyde Cu_2O ou de carbonates basiques. Le cuivre trouve ses applications dans de nombreux cas tels que les fils électriques, la chaudronnerie, les conduites pour fluides, etc. Les sels cuivreux et des sels cuivriques sont utilisés par l'industrie comme catalyseurs, pigments, sel de photographie, préservation du bois, stabilisants chimiques, ...

Il est utilisé par l'agriculture comme insecticides, antifongiques, anti-cryptogamiques, agents de conservation des graines, ... De fait de sa forte affinité pour les composés organiques complexants, le cuivre est souvent présent sous forme de complexes organo-métalliques (Hodgson *et al.*, 1966). Behel *et al.*, (1983) retrouvent dans la solution d'un sol amendé en boues d'épuration urbaines, 80 % de cuivre sous forme de fulvates.

II. 1. 4. Le nickel :

Le nickel est un élément très abondant dans les météorites et à l'intérieur du globe terrestre. Les minerais de nickel les plus communs sont les sulfures, les oxydes et les silicates (Levesque 1978b). La principale source de rejet de nickel est la galvanoplastie, l'industrie métallurgique, la fabrication de batteries, ... (Levesque, 1978b; Lauwerys *et al* 1982).

II. 1. 5. Le chrome :

L'usage croissant du chrome est dû essentiellement aux développements technologiques qui ont donné à cet élément une importance considérable. Mais au fur et à mesure du développement de ces applications, leurs effets sur la santé se sont précisés. Les principales sources de pollution par chrome sont les rejets des ateliers de traitement de surface, des tanneries et de l'industrie textile, ...

II. 1. 6. Le cadmium :

Le cadmium est un métal relativement rare. A l'état naturel, on ne le retrouve isolé que sous forme de sulfure de cadmium appelé 'Greenockite'. Il est essentiellement un sous-produit de la métallurgie du zinc et du plomb. La concentration normale dans l'air est de 0,001 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Haguenoer *et al* 1981), dans l'eau est de 1 $\mu\text{g}/\text{litre}$ (Hale 1977) et dans l'écorce terrestre, voisine de 0,1 mg/kg (Adriano, D. C. 1986).

Dans les sols non contaminés et non cultivés, l'abondance de Cd est essentiellement liée à la composition des roches mères. Les sols développés sur des roches sédimentaires ont une teneur de Cd de l'ordre de 0,3-11 mg/kg (Page et Bigham, 1973). Outre la roche mère, les principales sources de cadmium pour le sol sont les amendements agricoles, les déchets urbains, les retombées atmosphériques et les industries des métaux.

En agriculture, les engrais phosphatés apportent des quantités non négligeables de cadmium aux sols (Godin, 1983; Tauzin et Juste, 1986; Adriano, 1986). Les retombées atmosphériques normales apportent de 0 à 1,5 μg de composés de cadmium par jour (Muskett 1979). Au voisinage des axes routiers ou à proximité de sites industriels, elles constituent un risque de pollution permanent (Godin, 1983, 1986). Pour les sols agricoles (cultivés), la concentration moyenne du cadmium dans les sols de la Suède et du Danemark est d'environ 0,3 mg/kg (Adriano, D. C. 1986). L'utilisation de boues d'épuration des eaux urbaines, dans l'agriculture, augmente souvent la teneur en cadmium du sol.

Des concentrations de 50 ppm de cadmium (matière sèche) ont été retrouvées dans les feuilles d'arbres à l'intérieur d'une fonderie, mais à 15 km elles sont encore de 0,25 ppm (Little 1972). Les produits de la mer (huîtres, crustacés, poissons) peuvent concentrer le cadmium 10.000 à 100.000 fois par rapport à l'eau de mer. D'autres aliments comme les céréales, les produits laitiers et les viandes, surtout les rognons et le foie, apporteraient de 100 à 300 μg de cadmium dans l'alimentation quotidienne dans certaines régions contaminées (Ragaini *et al.* 1977). La concentration élevée en cadmium des poissons, coquillages et autres aliments, est à l'origine de la maladie de 'ouch-ouch' ou 'itaî-itaî' du district de Toyama au Japon (Bazargan, 1989). En fin, chaque cigarette contient de 0,5 à 2 μg de cadmium (Lewis 1972) et l'apport de pollution par le tabac serait plus important que par la pollution atmosphérique autour des fonderies de cadmium (Wysowski *et al.* 1978).

II. 2. État des métaux lourds dans le sol :

Le sol, l'eau et l'air constituent les maillons essentiels de la chaîne de transfert des métaux lourds (fig. II. 1). La contamination naturelle du sol résulte généralement de l'altération de la roche mère sous l'influence de procédés physiques, chimiques et biologiques. Il constitue un système ouvert, soumis à une évolution pédologique avec des apports constants de minéraux provenant de la roche mère ou amenés par l'Homme comme les produits pour l'agriculture ou les déchets urbains et industriels (Chappuis, 1991).

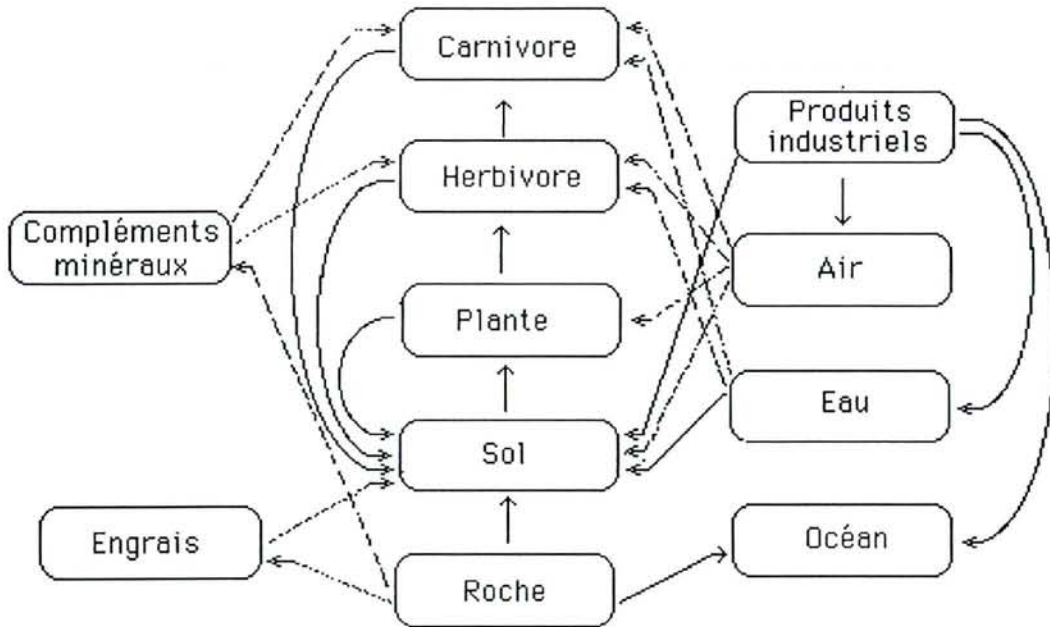


Figure II. 1 : Cycle des éléments minéraux (d'après Lamand, 1981).

Comme les autres éléments minéraux, les sources de métaux lourds sont très nombreuses et de natures très différentes. Ils sont présents dans les sols sous des formes chimiques très variées qui dépendent de la nature et de l'origine de l'élément ainsi que des conditions physico-chimiques du sol dans lequel ils sont introduits.

En général il existe une grande différence entre la forme chimique des métaux qui viennent de sources naturelles et celles provenant des déchets industriels ou agricoles (Berrow *et al* 1991). D'autre part, le sol est un milieu très complexe et comme pour plupart des éléments, la concentration totale d'un métal dans le sol ne représente pas sa biodisponibilité* réelle.

Bien que de nombreux travaux aient été consacrés à l'évaluation de la biodisponibilité de métaux lourds, les informations obtenues ne sont pas encore suffisantes pour estimer correctement leurs impacts. C'est pourquoi les réglementations pour l'environnement concernant les métaux lourds restent encore basées sur leur concentration totale

* La biodisponibilité est l'aptitude d'un composé quelconque du sol à être transféré vers un organisme vivant (Coïc *et al.* 1989).

II. 3. Bio - accumulation des métaux lourds par les champignons :

II. 3. 1. Interaction entre les métaux lourds et les champignons :

L'effet des métaux lourds sur les champignons est présent au niveau de la croissance, de la reproduction, de l'activité biochimique et de la morphologie. Les effets biochimiques se manifestent par l'inhibition de l'activité de certaines enzymes de respiration des cellules, et de la synthèse d'ARN et des protéines.

En général, les doses élevées des métaux lourds diminuent le taux de croissance et la biomasse produite. Cependant, dans certaines circonstances ils peuvent stimuler l'activité des champignons. L'excès de métaux lourds se traduit au niveau des populations par des changements de la microflore et la réduction du nombre de micro - organismes (Zibilske et Wagner, 1982). D'une part les composés métalliques agissent sur la microflore du sol, d'autre part les micro-organismes peuvent agir avec les métaux présents dans le sol (Gadd 1988).

La biodisponibilité des métaux lourds dépend en grande partie de la présence et de l'activité des micro - organismes. Les actions métaboliques de certains champignons influent sur les différentes étapes de mobilisation ou d'immobilisation des métaux dans les sols (Betty, *et al.* 1991).

Les champignons des mycorhizes sont efficaces sur le transfert sol - plante des cations métalliques. La mycorhization peut aussi augmenter la résistance des plantes à la toxicité des métaux lourds et par ce fait faciliter la pollution de la chaîne alimentaire (El-chahatha, 1991; Weissenhorn, 1994).

II. 3. 2. Toxicité des métaux lourds pour les champignons :

Le phénomène de toxicité se traduit, par une diminution considérable du développement des champignons (Gildon et Tinker, 1983).

De nombreux travaux montrent que les métaux après leurs complexifications par la matière organique, sont moins toxiques pour les micro-organismes que leurs formes libres. En général, la toxicité des métaux lourds est due à leur concurrence avec les cations, en ce qui concerne leur assimilation par les cellules ou le transport par la membrane cellulaire, ces cations et les anions modulent la toxicité par les métaux. Babich et Stozky (1982) montrent par leur expérience, la réduction de la toxicité de Ni^{2+} en présence d'ions Mg^{2+} et de Cd^{2+} en présence de Cl^- . Ils montrent aussi que des autres anions tels que CO_3^- et PO_4^{3-} , forment des complexes insolubles avec les métaux et réduisent ainsi leur toxicité (Fourest 1993).

II. 3. 3. Absorption des métaux lourds par les champignons :

En effet, les métaux sont directement absorbés par les micro-organismes en fonction de leurs besoins nutritifs (Bertrand, 1972; Weinberg, 1977) mais dans certaines conditions l'absorption d'un élément peut aller au-delà des besoins nutritionnels (bio-accumulation).

L'absorption des métaux lourds par les champignons est conditionnée par de nombreux facteurs physico-chimiques tels que le pH, la température, la matière organique, la nature des cations et des anions (Babich et Stotzky, 1977). La forme chimique du polluant, sa concentration, ses interactions possibles avec d'autres éléments constituent des paramètres essentiels déterminants l'interaction entre les métaux lourds et les champignons. L'absorption et la précipitation dépendent aussi de l'âge de la souche. Ceci est dû à la différence de composition moléculaire de la paroi entre une souche jeune et une souche âgée.

Les champignons absorbent des métaux en deux phases, active et passive, dépendant ou indépendantes du métabolisme (Gadd 1988). L'accumulation active dépendante des réactions métaboliques, peut parfois largement excéder les phénomènes d'adsorption physico-chimique.

La fixation directe de métaux par les champignons se produit dans certains cas au niveau des parois. La paroi des champignons filamenteux est constituée d'une série de couches de biopolymères glucidiques comme la chitine, le chitosane, les glycanes, les polyuronides, les mannanes, les celluloses... (Williams et Kirk, 1988; Roux *et al* 1993). Ceux-ci portent de nombreux groupements anioniques, véritables pièges des cations métalliques même lorsque ces champignons sont morts (Galun, 1982). Dans ce cas, les champignons morts sont insensibles à la toxicité des polluants.

Certains micro-organismes semblent être capables de produire des métabolites susceptibles de réagir chimiquement avec les cations et de former avec ceux-ci des composés insolubles qui précipitent sur la surface de la cellule. Les cations métalliques peuvent être adsorbés grâce aux effets électrostatiques sur des groupements de la paroi cellulaire (PO_4^{3-} , COO^- , OH^- et HS^-), ou forment des complexes (chélates) avec les groupements aminés constituant les parois mycéliennes (Tzesos, 1983; Betty, *et al.* 1991). Les cations métalliques peuvent également passer à travers la paroi cellulaire chargée négativement.

Pour détoxifier des sites pollués, par les champignons, on a exploré deux mécanismes : l'adsorption par des biomasses mortes, ou l'accumulation par des champignons vivants. Chacun de ces mécanismes a ses avantages :

1. la bio - accumulation par des champignons vivants est un système auto renouvelable par la croissance des micro-organismes. Dans ce système, on a la possibilité d'immobiliser des métaux par la modification chimique, par le transport intracellulaire, à l'aide de la dégradation enzymatique des composés organo - métalliques ou encore par la synergie de plusieurs micro-organismes. Mais il est nécessaire d'utiliser des souches résistantes et nourrir ces champignons. Certains produits secondaires du métabolisme peuvent nuire à l'épuration ou solubiliser les métaux,

2. L'accumulation des métaux lourds par des biomasses mortes est un système facile à modéliser, rapide, sans contraintes physiologiques, indépendant de la température et insensible à la toxicité. Un tel système n'a pas besoin de nutrition mais sa capacité de récupération des métaux est limitée (Macaskie, 1990.; Roux *et al* 1993). Dans certain cas, on observe que la quantité des métaux accumulée à la surface de la cellule est plus importante chez les organismes morts que chez les vivants. Ceci peut être dû à l'effet toxique des métaux sur les organismes vivants. (Goy, 1988).

II. 3. 4. Résistance des champignons aux métaux lourds :

La résistance aux métaux lourds a été observée pour tous les types de micro-organismes (Babich et Stotzky, 1977; Bitton et Freihofer, 1978). Mais l'emploi des champignons pour la bio - détoxification des sols, semble être promis à un bel avenir. En effet, ces organismes peuvent coloniser de vastes territoires alors que les bactéries se développent dans des zones plus limitées.

La réponse des champignons aux excès de métaux lourds dépend du type d'élément, de la nature du milieu et de la population fongique (Graff et Schwantes, 1983). Différentes espèces de champignons et aussi les différentes souches d'une même espèce ne présentent pas forcément les mêmes tolérances et les mêmes capacités de bio-absorption (Macaski *et al.* 1982).

Le mécanisme de tolérance et d'accumulation des métaux n'est pas encore bien connu. Certains champignons échappent à la toxicité des métaux par le changement de la forme chimique des composés métalliques, l'immobilisation des métaux à la surface des cellules ou à celle des protéines, le blocage des voies de transport ou encore par le rejet des métaux au fur et à mesure de leur absorption.

Les champignons élevés en milieu pollué s'adaptent progressivement et accumulent de moins en moins de métal au fil des générations. Une sélection d'espèces tolérantes ou résistantes s'opère grâce à la concentration élevée de métaux lourds dans le sol (Wessenhorn *et al.* 1994).

Les champignons présentent la même sensibilité aux métaux lourds que celle mise en évidence pour l'ensemble des vivants. Mais certaines espèces de champignons démontrent un pouvoir de résistance et de bio-accumulation remarquable de certains métaux spécifiques. (tableau II. 1). Stokes et Lindsay (1979) ont isolé plus de 600 mmol de Cu/ kg M.S. de *Penicillium ochrochloron*. Tobin *et al.*, en utilisant la biomasse morte de *Rizopus*, ont trouvé une accumulation de 820 mmol d'UO₂ et 210 mmol de Cu²⁺ par kg de M.S. En utilisant *R. arrhizus* Tsezos et Volesky (1981) ont trouvé une capacité de rétention de cuivre de 3 000 mmol de Cu par kg de biomasse (>180 mg/g).

Tableau II. 1. Certains champignons résistants ou/et accumulateurs des métaux.

Champignon	Métal	Référence
<i>Rhodotorula. glutinis</i>	Be, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn	Drapeau <i>et al.</i> 1984
<i>Candida utilis</i>	Cd, Co, Cu, Zn	Norris <i>et al.</i> 1977
<i>Saccharomyces cerevesiae</i>	Cd, Cu, Co, Mn, Ni, U, Zn	Norris <i>et al.</i> 1977, Tobin <i>et al.</i> 1984, Broda, 1972; Gadd 1990
<i>Mycelia sterilia</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> , 1982
<i>Aspergillus sp.</i>	Al, B, Co, Cu, Sn, Fe, Mn, Ni, Pb, Pt, Rb,	Drobot 1981
<i>A. niger-</i>	Zn, Cu	Dave <i>et al.</i> , 1980
<i>A. carbenarius</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> 1982
<i>A. ustrus</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> 1982
<i>Fusarium oxisporum</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> , 1982
<i>Metarizium anisopliae</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> , 1982
<i>Penicillium sp.</i>	U, Sr, Zn, Cu, Cd	Zajic <i>et al.</i> 1972; Dave <i>et al.</i> , 1980; Siegel, 1990
<i>P. canescens</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> , 1982
<i>P. chrysogenum</i>	Cd, Th, U	Macaskie <i>et al.</i> , 1982, Tsezos <i>et al.</i> 1981, Siegel, 1990
<i>P. crutatum</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> , 1982
<i>P. digitatum</i>	U	Galun <i>et al.</i> 1983,
<i>P. janithivellum</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> , 1982
<i>P. ochrochloron</i>	Cd, Cu, Zn, Cd	Macaskie <i>et al.</i> , 1982, Stokes <i>et al.</i> 1979
<i>P. oxalicum</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> , 1982
<i>P. spinolusum</i>	Cd, Cu, Au, Zn	Macaskie <i>et al.</i> , 1982,
<i>P. chrysogenum</i>	Zn, Cd, Pb, Ni, U	Gadd, 1990; Fourest, 1993,
<i>Paecilomyces varioti</i>	Cd	Macaskie <i>et al.</i> ; 1982
<i>Rhizopus sp.</i>	Cr, U	Treen-Sears <i>et al.</i> 1984
<i>R. arrhizus</i>	Ag, Ba, Cd, Cu, Fe, La, Mn, Hg, Pb, Th, U, Zn, Ni	Tsezos, 1983, Tobin <i>et al.</i> 1984, Siegel, 1990 Fourest, 1993
<i>Mucor miehei</i>	Zn, Cd, Pb, Ni	Fourest, 1993
<i>Pleurotus ostreratus.</i>	Cu, Cd, Zn, Hg	Sanglimsuwan, 1992
<i>P. cystidiosus</i>	Cu, Zn, Co	Sanglimsuwan, 1992
<i>P. salmoneostramineus</i>	Cu, Zn, Ni	Sanglimsuwan, 1992
<i>P. flabellata</i>	Cd, Hg	Brunnet <i>et al.</i> , 1983
<i>P. cornucopiae</i>	Cd, Hg	Brunnet <i>et al.</i> , 1983
<i>Grifola frondosa</i>	Cu, Zn	Sanglimsuwan, 1992
<i>Lampteromyces japonicus</i>	Cu, Zn	Sanglimsuwan, 1992

II. 4. Bio - accumulation des métaux lourds par les plantes :

II. 4. 1. Présence de métaux lourds dans les tissus végétaux :

Les végétaux comme tous les êtres vivants, ont besoin d'éléments minéraux pour leur croissance et métabolisme. Les métaux contenus dans les tissus végétaux à des taux inférieurs à 1 000 ppm sont classés comme oligo-éléments. Ainsi, le fer et le manganèse ont une teneur de 10 à 1000 ppm dans la matière sèche. Alors que celles du zinc et du cuivre sont environ 10 ppm. Al, Ni, Co, Mo, ... ont des teneurs encore plus faibles de 0,001 à 1 ppm. D'autres éléments non indispensables comme Li, Pb, Cr, Se et Cd sont présents dans le sol ou les eaux et peuvent être absorbés par les végétaux (Heller *et al.* 1993). Les valeurs ci-dessus ne sont pas toujours fixes. Des variations, parfois importantes, ont été constatées.

Au cours d'expériences en solution nutritive contenant différentes concentrations de cadmium, Pettersson (1977) a observé que la capacité de rétention de cadmium peut être classé dans l'ordre décroissant comme suit : laitue > oseille, carotte, tomate > navette, chou, radis > moutarde, maïs > concombre, tournesol, pois, haricot > blé, avoine. Parmi les espèces fourragères, l'ordre suivant a été constaté : luzerne > trèfle > fasce > herbe du Bermuda (Bingham *et al.*, 1976).

Kuboi *et al.*, (1986) ont classé les familles végétales suivantes selon leur capacité d'accumulation du Cd : faible capacité (*legumineuseæ*); capacité moyenne (*gramineæ*, *liliaceæ*, *cucurbitaceæ*, *umbelliferaæ*), capacité forte (*chenopodiaceæ*, *cruciferaæ*, *solanaceæ*, *compositæ*). Enfin, l'absorption et l'accumulation de métaux lourds par la plante varient en fonction des variétés d'une même espèce. Cette variation a été observée pour le blé et l'orge (Pettersson, 1977; Chang *et al.*, 1982), la laitue (John et Van-Laerhoven, 1976; Cast, 1980), le maïs (Cast, 1980), le riz (Chino; 1981), le soja (Bogges *et al.* 1978) et le tabac (Mench *et al.*, 1988).

La quantité d'éléments chimiques absorbée par la plante, au cours de son cycle de vie, est différente selon les périodes considérées (Blacke et Duboys, 1982). En plus, il existe aussi des variations saisonnières qui ne sont pas les mêmes pour l'absorption de différents métaux. Mitchell et Burrige, (1980) ont montré des changements des teneurs de Cu et de Zn de différentes parties d'*Avena sativa* en fonction de la saison (Tableau II. 2). Ainsi, au fur et à mesure de la maturation de la plante sa teneur en cuivre et zinc diminue.

Tableau II. 2: Distribution saisonnière de Cu et de Zn dans *Avena sativa* (mg/kg MS).

Parties de plante	28Mai		16Juin		15Juillet		20Août		4Sept.	
	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn
Plante entière	6,4	41	3,0	25	1,5	15	1,3	16	1,5	16
Graine	-	-			2,0	28	1,6	26	1,7	24
Tige	-	-	2,0	24	1,1	11	1,0	5	1,1	4
Limbe de feuille	-	-			1,1	12	2,0	7	1,2	6
Gaine de feuille	6,4	41	4,0	27	2,5	14	1,4	20	1,7	15

II. 4. 2. Transfert des métaux lourds entre le sol et les plantes :

Il est acquis que les métaux lourds présents dans le sol soient absorbés à des degrés divers suivant la nature et la forme des éléments, la nature du sol et l'espèce cultivée. La racine est le principal organe responsable de l'admission des éléments dans la plante (Marschner, 1985).

Normalement le flux de transfert des métaux lourds hors du sol (sans restitution) est faible si on le compare aux réserves potentielles (tableau II. 3, Coïc et Coppenet, 1989). Les métaux lourds sont mal absorbés par les plantes, un excès de plomb ou de cadmium enrichi peu les plantes en ces éléments, un excès de zinc enrichi les plantes très modérément .

Tableau II. .3 : Teneurs comparées des sols et des végétaux en métaux lourds (mg/kg MS).

Métaux	Sol (élément total)	Végétaux (feuilles)
Fe	10 000 - 50 000	50 - 200
Mn	200 - 1 000	50 - 150
Ni	10 - 1 000	0,1 - 3
Cr	5 - 3 000	0,2 - 1
Zn	10 - 100	25 - 50
Cu	8 - 40	5 - 15
Cd	0,3 - 11	>13

De ce fait les mécanismes de protection de la plante limitent l'effet défavorable des éléments et les risques de toxicité sont réduits pour les sols anormalement riches en éléments indésirables.

De nombreux facteurs liés au sol et à la plante conditionnent la fraction assimilable de métaux. La richesse de la solution du sol en métaux lourds est primordiale. Mais la présence de métaux dans la plante est directement liée aux biodisponibilités des éléments dans le sol et dépend de :

- la quantité et la forme chimique des métaux dans le sol,
- la quantité de métaux accessible pour la racine,
- la capacité de plante pour transférer des métaux de l'interface sol - racine (Berrow *et al* 1991).

Certains facteurs susceptibles de modifier le transfert des éléments au travers du système racinaire des plantes sont présentés dans la figure II. 2 (Lamand, 1981):

1. Les racines créent une solution du sol qui facilite l'absorption des éléments. Les racines captent également des substances par diffusion créant ainsi autour d'elles un gradient de concentration (Scott *et al.* 1993).

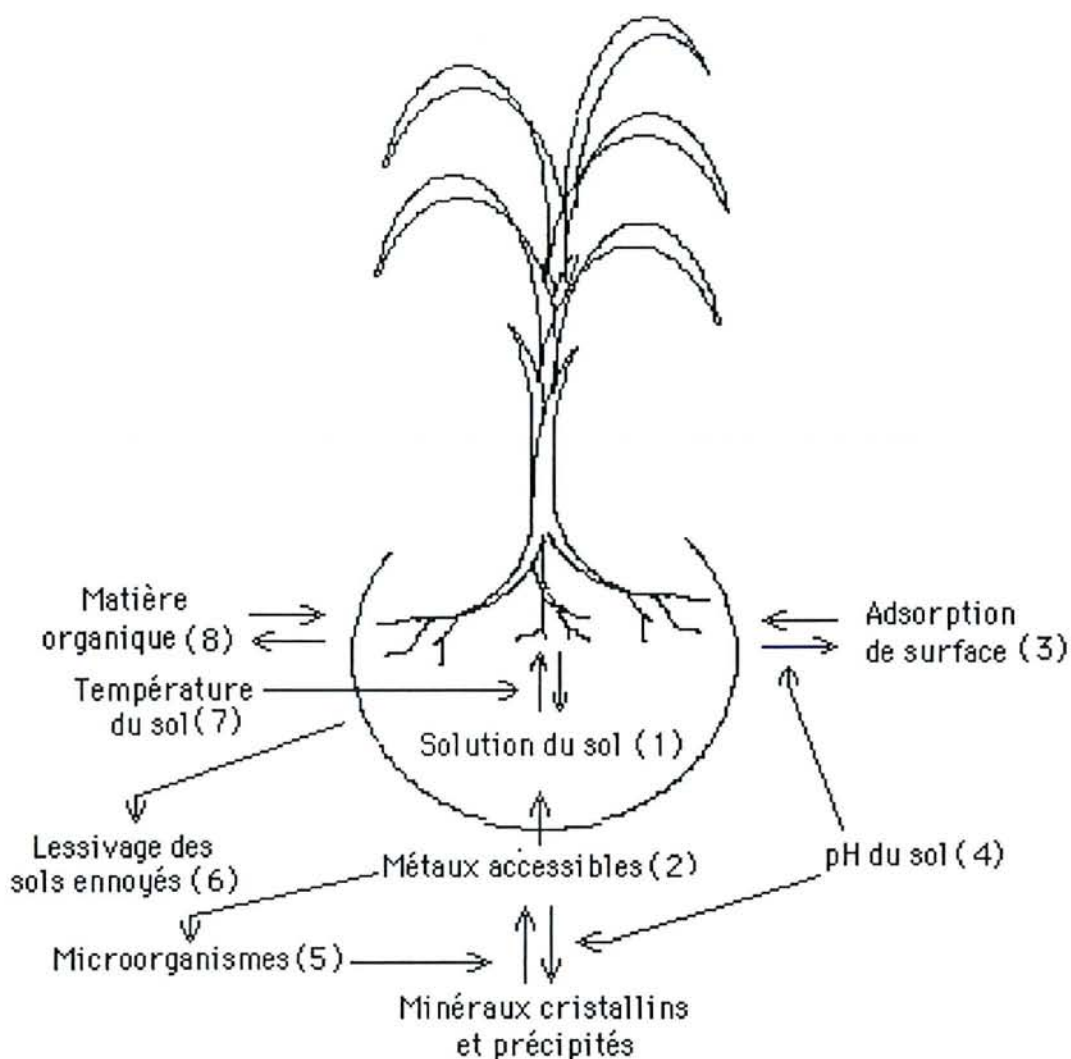


Figure II. 2 : Les transferts de métaux lourds du sol à la plante.

2. La forme et la composition chimique des éléments jouent un rôle important dans l'absorption végétale. Les plantes absorbent plus facilement des éléments sous forme ionique et les complexes organiques solubles,
3. Deux mécanismes expliquent la pénétration des ions dans les racines : l'absorption passive et l'absorption active. Le transport d'un ion est dit actif lorsque le potentiel électrochimique de l'ion, dans le sol, est plus faible que celui potentiel de la plante. Inversement, le déplacement de l'ion contre ce gradient de potentiel électrochimique est un processus passif (Callot *et al.* 1984),
4. Le pH du sol apparaît comme le facteur le plus important pour le contrôle de l'absorption de métal par la plante (Berrow et Burrige, 1991). Un pH acide tend à augmenter la solubilisation des métaux. Un pH basique tend à précipiter les éléments sous formes hydroxydes chélatées ou adsorbées. Ceci diminue la fraction librement accessible aux racines. Le pH optimal pour la croissance des plantes est situé entre 6 et 6,8 (Chappuis, 1991),

5. La microflore du sol, surtout celle de la rhizosphère, peut modifier la mobilité des métaux et faire varier les modalités d'absorption par les végétaux. Les exopolysaccharides des bactéries peuvent insolubiliser les métaux et entraîner une réduction de leur teneur dans les plantes (Lee et Lout, 1977). De même, les mycorhizes (endo et ectomycorhizes) ont un effet remarquable sur l'absorption et l'accumulation des métaux lourds par les plantes (Dueck, 1986, Berrow *et al* 1991),
6. Un excès d'eau induit un lessivage intense des sols provoquant la réduction de concentration et augmente la mobilité de la plupart des éléments (Cu, Mn, Zn, Mo, ...). Dans un sol pollué, certaines plantes apparaissent sur les monticules. Ceci est probablement dû au lessivage des métaux lourds (cf. chapitre VI),
7. La température du sol agit sur les réactions physico-chimiques et donc sur la mobilité des éléments. L'augmentation de température du sol conduit généralement à une absorption plus importante de composés métalliques par la plante (Haghiri, 1974; Giordano *et al.*, 1979; Juste et Solda, 1984),
8. La matière organique est composée partiellement de résidus végétaux et parfois de formes plus dégradées comme l'humus. Sa dégradation aboutit à l'apparition d'acides organiques (acides humiques, acides fulviques) qui sont des chaînes carbonées longues et ont un fort pouvoir chélateur pour les métaux lourds. Selon sa nature, le métal est associé à la matière organique sous forme de carbonates, de sulfures ou sous une forme correspondant à des états chimiques très stables (Morel 1985).

Ces facteurs n'agissent pas de façon indépendante, un traitement quelconque affecte le métabolisme, l'absorption et le transport de métaux lourds surtout quand les symptômes d'intoxication des plantes par les métaux apparaissent.

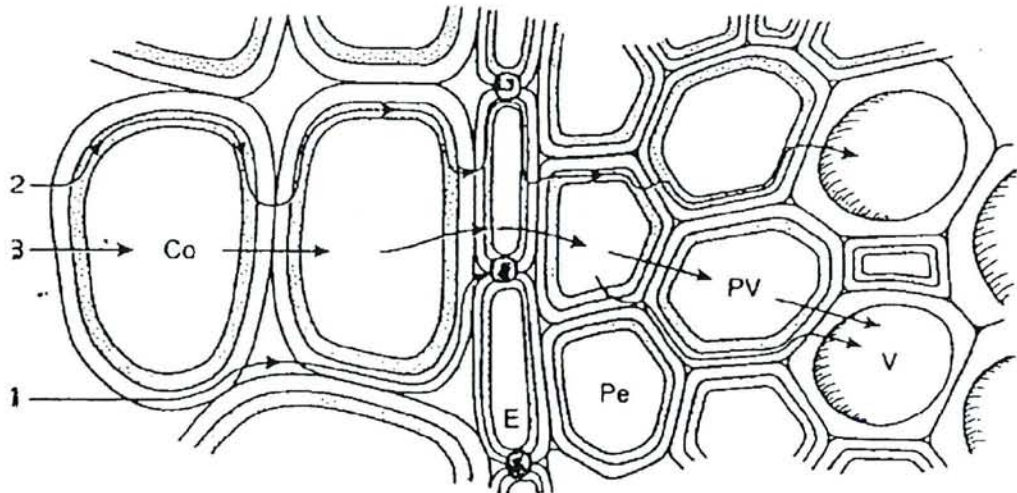
Finalement , il ne faut pas oublier que les membranes (comme le plasmalemme) sont peu perméables aux ions. Cela peut être constaté lorsqu'il y a une forte concentration à l'extérieur des racines et une faible concentration à l'intérieur des racines. La cellule ne réussit donc pas à exclure entièrement les éléments indésirables (Richter, 1993).

II. 4. 3. Répartition de métaux lourds dans la plante :

Les métaux lourds, absorbés en général sous forme d'ions, migrent vers les parties aériennes des plantes accompagnées par d'autres ions et des acides organiques courts, des acides aminés ou des petits peptides. Dans certains cas, les métaux peuvent provenir de tissus de réserves comme les graines ou les tubercules.

Les éléments absorbés par les poils gagnent les vaisseaux par le cortex (écorce) et la stèle (cylindre central). Ils sont transférés par trois trajets (figure II. 3):

1. Voie apoplasmique, ensemble des parois, des lacunes et des méats très accessibles à l'eau et aux ions minéraux,
2. Voie symplasmique, ensemble des cytoplasmes qui sont en continuité par les plasmodesmes,
3. Voie de vacuole à vacuole, au travers des parois et des couches cytoplasmiques.



1- Voie apoplasmique 2- Voie symplasmique 3- Voie de vacuole à vacuole
 Co: cellule de cortex; E: endoderme; Pe; péricycle; PV: parenchyme vasculaire; V: vaisseau

Figure II. 3: Transit des éléments dans la racine

Dans le cortex, l'apoplasme, qui offre très peu de résistance, est la voie principale. Le cadre subérifié des cellules endodermiques (cadre de Caspary) forme un barrage que les substrats doivent contourner par le symplasma. Les trois voies sont d'ailleurs en constante communication.

Les propriétés de la racine permettent de sélectionner des cations constituant ainsi un premier filtre pour les métaux lourds. Grâce à leurs interactions avec les sites électronégatifs de l'apoplasme, les métaux lourds sont immobilisés sous diverses formes dans le symplasma.

La migration et l'accumulation des métaux lourds dans les organes, les tissus, les cellules de la plante dépendent essentiellement du métal considéré. Mais sauf quelques exceptions (Reddy et Patrick, 1977 ; Richter et Hlusek, 1986 ; Mench *et al.*, 1988), la plupart des espèces végétales paraissent opérer une forte rétention des métaux lourds dans les racines, à un degré moindre dans les feuilles; les fruits et les graines sont très peu contaminés (Page *et al.*, 1981; Peterson, 1986).

Ainsi le cuivre a tendance à s'accumuler dans la racine (Coïc *et al.*, 1989). Pour la plupart des plantes, la concentration de cadmium dans les racines est au moins trois fois plus importante que celle des parties aériennes (Chino et Baba, 1981, Sameni *et al.*, 1987). Cabrer *et al.* (1988) ont observé, dans des expériences en solution nutritive, que le rapport de la concentration de cadmium (racines/parties aériennes) était d'environ 10 et indépendant de la

forme anionique de cadmium. Jarvis et Jones (1978) montrent que les racines de *Lolium perenne* agissent comme une barrière. Ainsi, ils réduisent le transport du cadmium vers les parties aériennes et conservent plus de 90% de cadmium dans les racines. Cataldo *et al.* (1981) obtiennent, pour le soja, un taux de rétention similaire (84 %).

Dans un sol normal, ceci peut conduire à une déficience des métaux nécessaires pour les plantes et les herbivores. Dans le cas des sols pollués par de fortes quantités de métaux lourds, cette même propriété peut profiter à la plante et améliorer la ration alimentaire des herbivores. D'autre part le transfert des métaux lourds dans les parties consommables des végétaux, joue un rôle essentiel en matière de pollution des chaînes alimentaires.

II. 4. 4. Interaction entre les métaux lourds et d'autres éléments :

La courbe d'action d'un élément dépend non seulement de la nature du sujet (espèce, âge, ...) mais aussi des conditions d'alimentation et des effets des autres éléments minéraux. Il existe des interactions, synergie ou antagonisme*, entre les éléments nécessaires à la nutrition de la plante (oligo et macro - éléments). Elles se manifestent lors de l'absorption et la migration dans la plante. Ces interactions se traduisent soit par une mauvaise alimentation des organes ou des tissus de la plante soit par une inhibition du rôle d'éléments dans le métabolisme de la plante (Ibrahimzadeh, 1984).

De nombreuses expériences ont montré la synergie ou l'antagonisme entre les métaux lourds et d'autres éléments. On peut signaler l'antagonisme P - Zn (Coïc et Coppenet, 1989), Cd - Ca (Iwai *et al.*, 1975), Cd - Zn (Page *et al.*, 1981; Sikora et Wolt, 1986; McKenna *et al.*, 1991), Cd - Cu (Burton *et al.*, 1985), Cd - Ni (Page *et al.*, 1981), Cd - Mg (Chaney et Hornick, 1977), Cd - Se (Francis et Rush, 1974) et Cd - P (Williams et David, 1977; Street *et al.*, 1978). Enfin, on peut noter l'augmentation de l'absorption de Cd, par les plantes, en présence des chlorures (Bingham *et al.*, 1984).

La modification de la perméabilité de la membrane et la compétition ionique des métaux avec les ions H⁺ sont également possibles dans les milieux acides (Adriano, 1986; Hatch *et al.*, 1988). Ainsi, l'effet cumulatif d'un nombre élevé de métaux contenus dans les boues industrielles ne correspond pas forcément à la somme de leurs effets individuels.

II. 4. 5. Les plantes tolérantes et accumulatrices des métaux lourds :

Les plantes peuvent, comme pour les autres éléments, prélever des quantités différentes de métaux lourds. Elles adsorbent différentes quantités de métaux, en fonction de l'espèce et de l'élément considéré (Haghiri, 1973; Juste et Solda, 1984; Page *et al.* 1981; Kim *et al.* 1988).

* Le synergie entre deux éléments se traduit par l'amplification de l'action de A en présence de B, par contre un antagonisme, par une atténuation de l'effet de A en présence de B.

Les espèces qui poussent dans un milieu pollué s'adaptent progressivement et accumulent de moins en moins de métal au fil des générations. Une sélection naturelle d'espèces tolérantes est à relier aux concentrations élevées de métaux lourds dans le sol. Certaines espèces sont résistantes à plus d'un métal. *Agrostis tenuis* se pousse sur les sources d'arsenic en Cornwall et Devon (Angleterre). Elle tolère aussi les doses élevées de zinc et de nickel (Gregory et Bradshaw, 1965).

Certaines plantes poussant près des gisements métallifères (plantes métallophiles) peuvent facilement accumuler des masses relativement importantes de certains métaux lourds. Par exemple, *Agrostis tenuis* est capable d'accumuler 3 470 ppm As/ M.S. (Porter et Peterson, 1975).

Le mécanisme de tolérance n'est pas le même pour les différentes espèces. Certaines plantes assimilent une partie des métaux lourds présentes dans le sol alors que d'autres non. Ainsi, *Mimulus guttatus* piège le cuivre par des protéines spéciales (Heller, 1993). *Becium aureoviride* et *Triumfetta dikuluvensis* peuvent accumuler \approx 210 et 123 ppm de Cu dans la matière sèche. Ces deux plantes peuvent détoxifier les sols contenant du cuivre. Le deuxième groupe, comme *B. homblei* et de *T. cupricola* sont résistantes aux sols contaminés et n'assimilent pas plus de 40 ppm de cuivre. Ces derniers tolèrent la pollution, par exclusion de cuivre. *Viola calaminaria* pousse bien dans les sols ayant une concentration d'environ 1 % de zinc. Cependant, cette plante exclut le transfert du zinc, du plomb et du cadmium à son feuillage (Baker, 1981).

Un des exemples les mieux connus des modifications génétiques survenant dans une population exposée aux stress chimiques dus à la pollution, est l'évolution des écotypes de certaines espèces tolérantes aux métaux toxiques près des mines ou des sites pollués. Ces plantes métallo-tolérantes sont des indicateurs pour la recherche minière. Par exemple la population de *Hybanthus floribundus* est une indicatrice de présence de nickel en Australie. Les cendres de cette plante peuvent contenir environ 22 % du nickel. Certaines espèces d'*Astragalus* sont indicatrices d'uranium en Colorado. L'*Eriogonum ovalifolium* est considéré comme indicatrice de la présence d'argent en Montana. En Afrique du Sud, quelques plantes comme *Sedum lanceolatum* sont accumulatrices d'or (Harburne, 1982).

La plante *B. homblei* est une plante 'cuprophile' qui peut tolérer environ 7 % du cuivre dans le sol et contient 17% de cuivre dans ses feuilles (Reilly, 1969). Cette plante est reconnue comme indicatrice de sources de cuivre en Zambie et Zimbabwe (Cannon 1960). *S. acuminata*, *P. dovarrei* et *H. astrocaledonicus* poussent dans les sols enrichis de nickel comme en Nouvelle Calédonie et peuvent accumuler plus de 10 000 ppm de nickel dans la matière sèche. La sève de *S. acuminata* peut contenir jusque 17 % de nickel. *Thalaspia calaminaria* et *Viola calaminaria* ne poussent que sur les sols contenant de la calamine (Caroline et al., 1991).

Tableau II. 4 : Plantes résistantes et/ ou accumulatrices de métaux lourds.

Plante	Métaux	Référence
<i>Accanhorax sciadophylloides</i> (hyperaccumulatrice de Mn)	Mn	Memon 1982
<i>Agrostis canina</i>	Pb	Craig, 1976
<i>A. capillaris</i>	Pb, Zn, Cu, Cd	Symeonidis <i>et al.</i> , 1985
<i>A. stolonifera</i>	Cu	Woolhouse, 1983
<i>A. tenuis</i>	As, Zn, Ni, Cu, Pb	Gregory, 1965; Allen <i>et al.</i> . 1971; Porter <i>et al.</i> . 1975; Harborne 1982; David <i>et al.</i> 1995.
<i>Alyssum sp.</i>	Ni	Michell <i>et Burridge</i> , 1980
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	Pb, Zn	Gartside <i>et al.</i> 1974; Gartside <i>et al.</i> 1974
<i>Armeria maritima</i>	Cu	Woolhouse, 1983
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Cu	Gartside <i>et Mcneilly</i> , 1974
<i>Asclepia metallorum</i>	Cu	Duvingneaud <i>et al.</i> 1963
<i>Astragalus sp.</i>	Se	Caroline <i>et al.</i> 1991
<i>Avena sativa</i>	Cu, Zn	Michell <i>et Burridge</i> , 1980
<i>Becium aroxiride ssp. lupotoense</i>	Cu	Duvingneaud <i>et al.</i> 1963
<i>Becium homblei</i>	Cu	Cannon, 1960; Reilly, 1969
<i>Brassica juncea</i>	Pb, Cd, Cr, Ni, Zn	David <i>et al.</i> 1995.
<i>Calluna vulgaris</i>	Cu, Ar	Porter <i>et Peterson</i> 1975
<i>Canavalia ensiformis</i>	Ni	Marschner, 1985
<i>Crotalaria cobalticola</i>	Co	Michell <i>et Burridge</i> , 1980
<i>Cryptophalum exfoliatum</i>	Mn	Ibrahimzadeh 1984
<i>Cynosurus cristatus</i>	Cu	Gartside <i>et Mcneilly</i> , 1974
<i>Dactylis glomerata</i>	Cu	Gartside <i>et Mcneilly</i> , 1974
<i>Deschampsia caespitosa</i>	Al, Cd, Pb, Zn, Ni, Cu, Co	Gartside <i>et al.</i> , 1974; Cox <i>et al.</i> , 1980
<i>Elodea</i>	Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, Hg	Genin -durbe, 1988
<i>Eichornia crassipes</i>	Pb, Cd, Ni, Hg	Maes, 1986
<i>Festuca ovina</i>	Cu, Zn, Pb	Marschner, 1985
<i>Festuca rubra</i>	Cu, Pb, Zn	Marschner, 1985, David <i>et al.</i> 1995.
<i>Haumaniastrum sp.</i>	Cu	Ibrahimzadeh, 1984
<i>Haumaniastrum robeti</i>	Cu	Duvingneaud <i>et al.</i> , 1963
<i>Herausgegeben</i>	Ni	Marschner, 1985
<i>Hybanthus astracaledonicus</i>	Ni, Cr	Lee <i>et al.</i> , 1978

Tableau II. 4 (suite) : Plantes résistantes et/ ou accumulatrices de métaux lourds.

Plante	Métaux	Référence
<i>Ilex crenata</i>	Zn, Cd	Memon, 1982
<i>Jasione montana</i>	Ar	Peterson, 1971
<i>Lolium perenne</i>	Cu	Gartside et Mcneilly, 1974
<i>Lotus purshianus</i>	Cu	Wu et Kruckenberg, 1985
<i>Lupinus bicolor</i>	Cu	Wu et Kruckenberg, 1985
<i>Mechovia grandifolora</i>	Mn	Ibrahimzadeh, 1984
<i>Mimulus guttatus</i>	Cu, Zn, Pb	Allen <i>et al.</i> , 1971 Searcy <i>et al.</i> , 1985; Heller, 1993
<i>Pimelea suteri</i>	Cr	Peterson, 1971
<i>Plantago lanceolata</i>	Zn, Pb	Gartside et McNeilly, 1974
<i>Poa trivialis</i>	Cu	Gartside et McNeilly, 1974
<i>Psychotria dovarri</i>	Ni, Cr	Lee <i>et al.</i> , 1978
<i>Sibertia acuminata</i>	Ni, Cr	Lee <i>et al.</i> , 1978
<i>Silen dioica</i>	M.L.	Searcy et Mulcahy 1985
<i>Silen inflata</i>	Zn, Cu, Pb	Bröker 1963
<i>Thalaspis alpestre</i>	Zn, Pb, Cd	Ernst, 1975
<i>T. caerulea</i>	ML.	David et al. 1995.
<i>T. calaminare</i>	Zn	Caroline <i>et al.</i> , 1991
<i>T. goesingense</i>	Ni	Homer <i>et al.</i> 1991
<i>Triumfetta dikuluensis</i>	Cu	Duvingneaud <i>et al.</i> 1963
<i>Triumfetta cupricola</i>	Cu	Duvingneaud <i>et al.</i> 1963
<i>Vicia sp.</i>	M.L.	Caroline <i>et al.</i> , 1991
<i>Viola calaminaria</i>	Ni, Zn, Cu, Cd, Pb,	Lee <i>et al.</i> , 1978; Baker, 1981

* M. L. : Métaux lourds.



CHAPITRE III

BIO-ACCUMULATION DES METAUX LOURDS PAR LES CHAMPIGNONS

III. 1. Matériels et méthodes :

III. 1. 1. La boue industrielle :

Elle est utilisée dans nos expériences comme contaminant du milieu de culture. Cette boue est issue du traitement des effluents industriels par la précipitation de leur contenu en métaux lourds. Ses teneurs en métaux lourds sont comparées à celles de la croûte terrestre (Clarke \approx abondance naturelle de ces éléments dans la croûte terrestre) dans le tableau III. 1.

Tableau III. 1: Teneur en métaux lourds de boue utilisée (ppm).

Métaux	Boue	Clarke	Boue/ Clarke
Fe	60800	56 300	1,08
Zn	22300	70	318,57
Cu	7700	55	140,00
Ni	4060	75	54,13
Cr	25000	100	250,00
Cd	150	0,2	750,00
Σ ML	120010	56 600,2	2,12

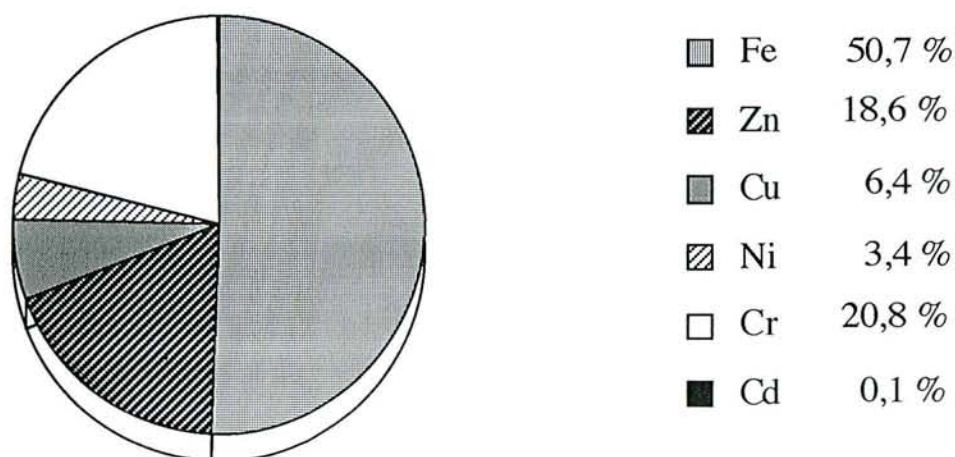


Figure III. 1 : Pourcentage des métaux lourds dans la boue utilisée.

III. 1. 2. Milieux de culture :

Les milieux de culture pour les champignons ont été préparés soit à partir du milieu solide 'malt-gélosé' (MG) soit à partir du milieu liquide 'malt' (annexe 1). Les milieux de culture témoins et les milieux contaminés par différentes concentrations de boue sont ramenés à un pH égal à 7 et stérilisés dans l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Ensuite, les milieux solides sont répartis dans les boîtes de Pétri. Enfin, les milieux liquides, à raison de 50 ml dans des flacons de 150 ml bouchés par le coton, sont stérilisés de la même façon.

III. 1. 3. La sensibilité des champignons aux métaux lourds :

'*Coriolus versicolor*' a été choisi comme organisme test pour estimer la résistance et la croissance de ce champignon sur les milieux contaminés par les boues à métaux lourds. L'effet des métaux lourds sur le champignon a été déterminé par comparaison de la croissance en absence et en présence des concentrations variables de boue. Les développements des hyphes ont été évalués sur les milieux malt - gélosés en absence et en présence des métaux lourds sous forme de concentration croissant de 0,1 à 100 g/l de boue. La croissance du champignon a été estimée par mesure de l'augmentation des diamètres de colonies pendant 18 jours d'incubation à 21°C (figure III. 2).

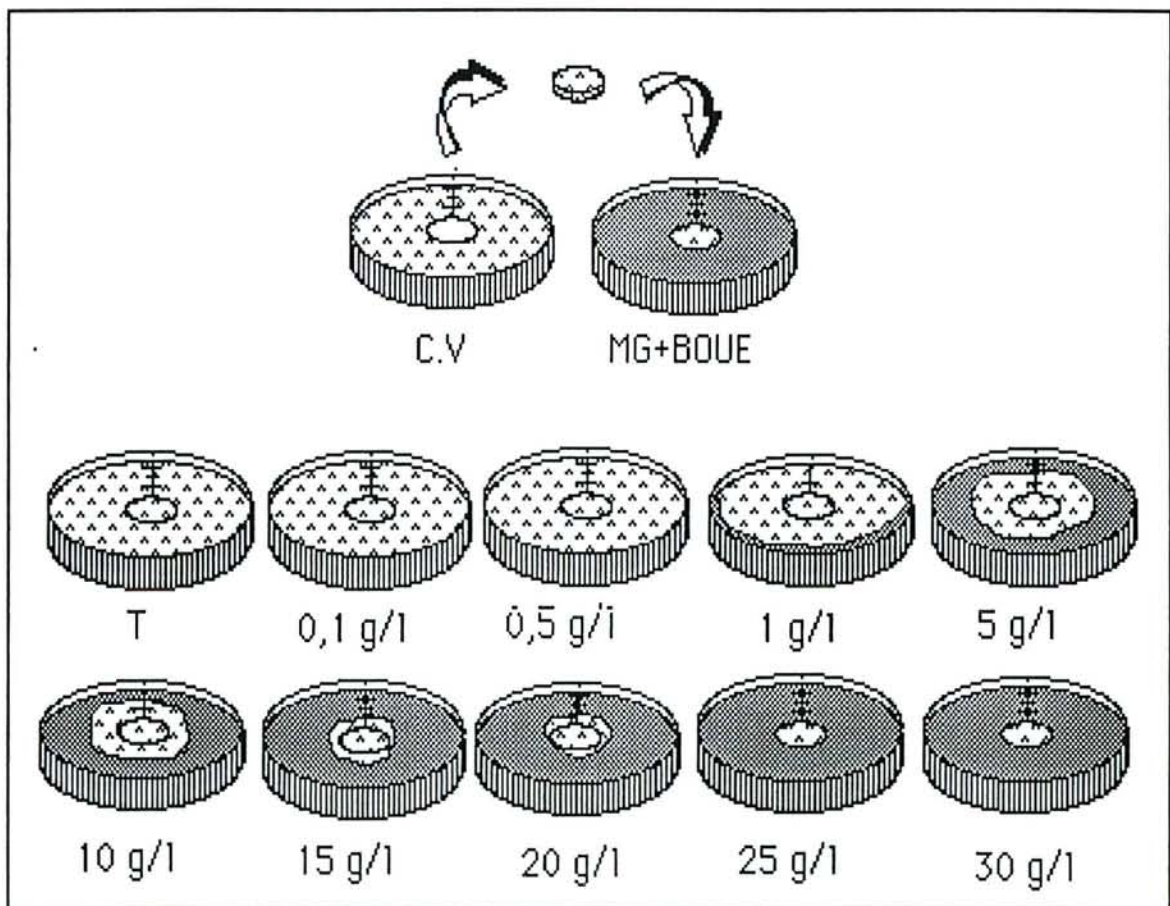


Figure III. 2 : Croissance du mycélium de *Coriolus versicolor* sur les milieux de culture contenant des concentrations variables de boue.

III. 1. 4. Isolement des champignons tolérants aux métaux lourds :

Un 'screening' est effectué afin de rechercher les champignons capables de se développer sur les milieux contenant les métaux lourds.

Les échantillons de terre ont été prélevés à partir de l'horizon (0 à 10 cm) à l'aide de spatules préalablement lavées à l'éthanol et introduits dans des sacs stériles. Différents types de sols ont été utilisés, pour chacun on a ajouté 10 g de sol à 90 ml de suspension stérile de 'T.S.' (Annexe 1).

On a procédé à une série de suspensions - dilutions des échantillons, par addition d'eau distillée stérilisée (1/10, 1/100, 1/1000, ...), après agitation on a prélevé stérilement 0,1 ml de chaque dilution qu'on a étalé sur les milieux malt - gélosés contaminés par une dose de 50 g/l de boues. Les boîtes ont été incubées pendant 5 jours à 21° C et les souches résistantes ont été purifiées. Ces souches sont repiquées et semées sur les milieux contenant des concentrations croissantes de boue (figure III. 3).

III. 1. 5. Mesure d'absorption des métaux lourds par les champignons :

Le champignon est incubé sur le milieu liquide témoin et les milieux contenant des boues (100 g/l et 250 g/l). Au bout de 4 semaines, le produit est lavé à l'eau distillée, filtré et séché dans une étuve à 105 °C pendant 24 h. La quantité de métaux lourds a été déterminée par la méthode d'absorption atomique.

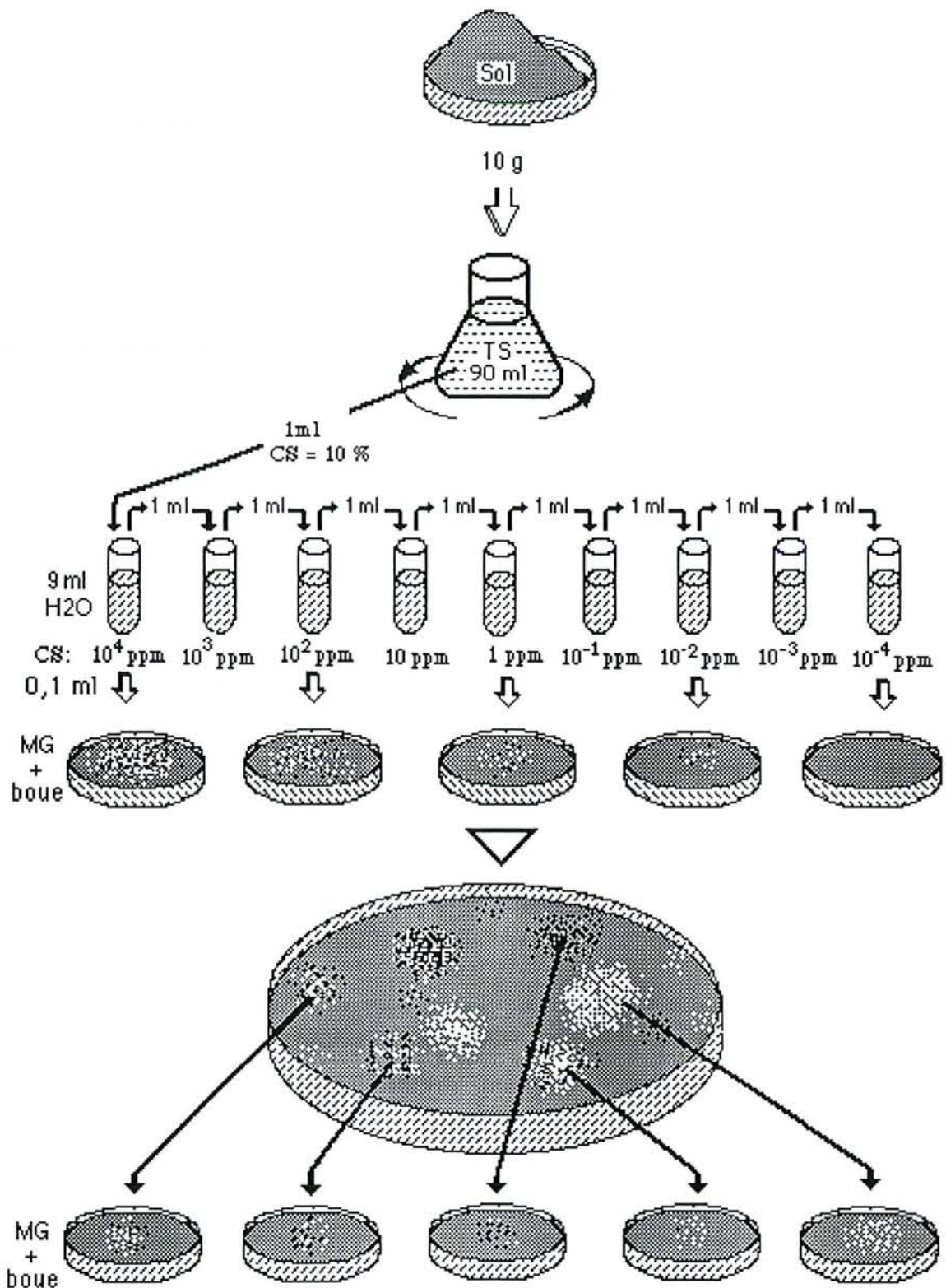
III. 1. 6. Estimation de la quantité de métaux absorbée par le champignon :

Pour estimer la quantité des métaux lourds susceptibles d'être absorbés par le champignon, l'ensemencement de *Penicillium*. sp est réalisé dans un bac (35 * 55 * 20 cm) contenant le milieu liquide et 200 g/l de boue. La surface du bac a été couverte par un film de polyéthylène noir, et la croissance a été suivie pendant 4 semaines.

L'agitation a été effectuée une fois par jour en prenant garde de ne pas déformer les colonies de champignons. Ensuite, la partie supérieure du milieu est filtré. Les mycéliums restant sur le filtre ont été lavés par l'eau distillée, et portés à l'étuve à 105° C pendant 24 heures. Puis, ils ont été pesés et leur teneur en métaux lourds a été déterminée par absorption atomique.

III. 1. 7. Effet de Cd sur la croissance des champignons :

L'effet individuel d'un métal lourd sur la croissance des champignons a été étudié comme suivant. *Penicillium*. sp est incubé sur le milieu malt - gélosé contenant 0 à 700 ppm de Cd(NO₃)₂.4 H₂O. Au bout de 4 semaines, l'effet du métal sur le champignon a été déterminé par comparaison des surfaces des colonies développées sur les différents milieux.



MG : milieu malt-gélosé

CS : Concentration du solide

Figure III. 3. : Isolement des champignons résistants aux métaux lourds.

III. 2. Résultats :

III. 2. 1. La sensibilité des champignons aux métaux lourds :

Les développements des colonies de *Coriolus versicolor* sur les milieux de culture contenant les concentrations croissant de 0,1 à 100 g/l de boue sont consignés dans la figure III. 4.

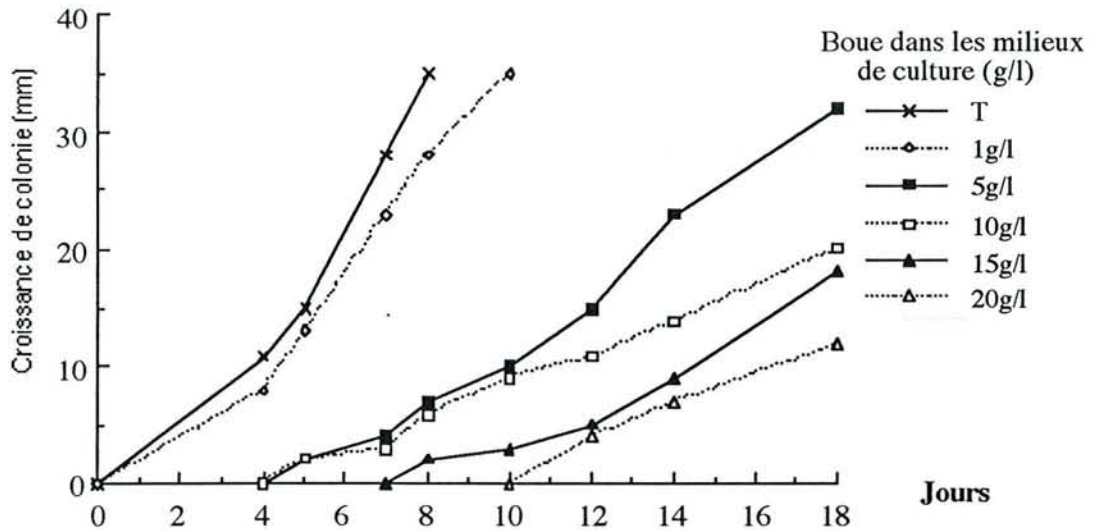


Figure III. 4 : Développement de la colonie de *Coriolus versicolor* sur les milieux de culture avec les concentrations variées de boue.

La croissance des colonies dans le milieu témoin et les milieux contaminés peut être représentée par des équations suivantes :

Témoin	$Y = -2,96 + 4,32 X$	$R^2 = 0,94$
1 g/l de boue	$Y = -3,02 + 3,67 X$	$R^2 = 0,96$
5 g/l de boue	$Y = -10,99 + 2,32 X$	$R^2 = 0,98$
10 g/l de boue	$Y = -5,70 + 1,42 X$	$R^2 = 0,99$
15 g/l de boue	$Y = -11,81 + 1,56 X$	$R^2 = 0,95$
20 g/l de boue	$Y = -14,11 + 1,47 X$	$R^2 = 0,99$

Y = Croissance de colonie (mm),

X = Temps nécessaire pour développement (jour).

R = Coefficient de corrélation

On a constaté que :

- dans les milieux ayant moins de 1 g/l de boue les effets des polluants ne sont pas perceptibles et les colonies de champignon couvrent toutes les surfaces des boîtes après 10 jours d'incubation,
- pour les concentrations de boue de 5 g/l à 20 g/l le développement des champignons est retardé et lié à la quantité des éléments lourds dans le milieu de culture,
- sur les milieux contenant plus de 20 g/l de boue la croissance de champignon est partiellement arrêtée.

III. 2. 2. Sélection des champignons tolérant des métaux lourds :

Après l'incubation des champignons d'origine tellurique dans le milieu malt-gélosé avec des concentrations variées de 0,1 à 600g/ l de boue, les champignons résistants aux métaux lourds sont isolés.

Les souches appartenant aux genres :

- *Penicillium expansum*
- *Acremonium strictum*
- *Papulaspora rubide*
- *Fusarium oxysporum*
- *Aspergillus versicolor*
- *Aspergillus* groupe *flavipes*

poussent bien sur le milieu ayant 250 g/ l de boue et contenant les métaux suivants :

Cd	37,5	ppm	Ni	1 015	ppm
Cu	1 925	ppm	Zn	5 575	ppm
Cr	6 250	ppm	Fe	15 200	ppm

Selon une comparaison des surfaces de colonies qui poussent sur le milieu précédent, la tolérance des champignons aux métaux lourds est classée en ordre décroissant comme suit :

Penicillium expansum > *Aspergillus* groupe *Flavipes* > *Aspergillus versicolor* > *Acremonium strictum* > *Fusarium oxysporum* > *Papulaspora rubide*.

La souche de *Penicillium expansum* que nous avons obtenu de certaines répétitions d'incubations et de sélections, est même capable de se développer sur un milieu contenant 500 g/l de boue.

III. 2. 3. Effet de la variation du pH sur le développement de champignon :

La croissance de mycélium de *P. expansum* est expérimentée dans les milieux de culture de MG avec 250 g/ l de boue dont les pH ont été ramenés à 6, 6,5, 7, 7,5 et 8 (par HCl 0,1 N ou NaOH 0,1 N). Les résultats des mesures des surfaces de boîtes couvertes par ce dernier montrent une variation de la vitesse de développement de ce champignon en fonction du pH, avec un maximum à pH égale à 7 (figure III. 5).

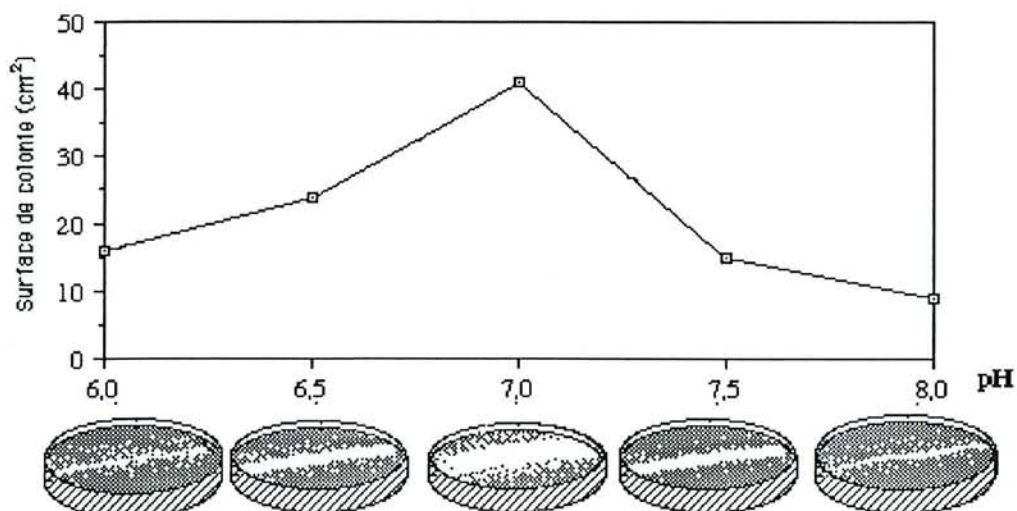


Figure III. 5 : Influence du pH sur le développement de colonie de *P. expansum* sur les milieux de 'MG + boue'.

III. 2. 4. Influence des concentrations variées de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ sur la croissance de *Penicillium* sp.:

Les résultats obtenus de l'incubation de *Penicillium* sp. sur le milieu MG contenant de 0 à 700 ppm de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ montrent une forte inhibition par le cadmium sur la croissance du champignon à partir de 50 ppm de nitrate de cadmium (figure III. 6).

Après 4 semaines d'incubation, la croissance de colonie, dans le milieu contenant 200 ppm de nitrate de cadmium, est réduite à environ 50 %. Cette réduction de la croissance de ce champignon a été obtenue par son incubation sur un milieu MG ayant 400 g/l de boue. Ceci souligne la haute toxicité de cadmium pour la croissance de ce champignon.

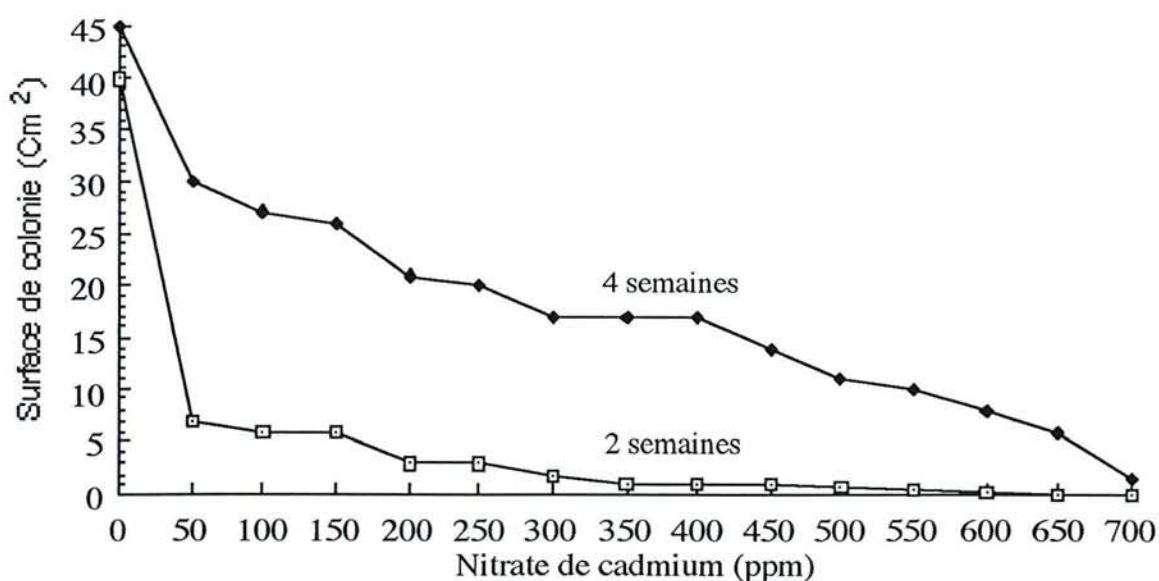


Figure III. 6 : Développement de *Penicillium* sp. sur le milieu 'malt-gélosé' additionné de concentration croissante de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$.

III. 2. 5. Accumulation des métaux lourds par *Penicillium expansum* :

Les analyses comparatives entre des teneurs en métaux lourds de *Penicillium expansum* croissant sur un milieu liquide contenant du malt, et de 2 autres milieux contenant du malt mais enrichis avec 100 g/l ou 250 g/l de boue (Tableau III. 2 et figure III. 7) montrent que ce mycélium est capable d'accumuler des quantités importantes de métaux lourds (Cr, Cu, Ni...), et les accumulations varient en fonction du métal considéré.

On a constaté que la teneur en chrome de *P. expansum* poussant sur le milieu avec 250 g/l de boue atteint 65,3 ppm ce qui correspond à plus de 65 fois la teneur du champignon qui pousse sur un milieu contenant 100 g/l de boue et 217 fois plus de la teneur de celui qui a poussé sur le milieu témoin. La teneur de cuivre accumulée par ce champignon ayant poussé sur le milieu 'pollué' (250 g/l) peut atteindre 17 303 ppm, ce qui correspond à plus de 1 600 fois la teneur moyenne du témoin. La teneur en cadmium atteint 11 ppm, soit à peu près 7,3 fois celles du témoin.

Tableau III. 2 : Teneurs comparées de Ca et de métaux lourds de *P. expansum* qui pousse sur le milieu témoin et les milieux pollués (100 g/l et 250 g/l de boue).

Métal	T	C1	C2	C1/T	C2/T	C2/C1
Ca	2590,0	28 900	32 400	11,2	12,5	1,1
Fe	112,0	2 293	1 075	20,5	9,6	0,5
Zn	75,3	890	234	11,8	3,1	0,3
Cu	10,8	5 050	17 303	467,6	1 602,1	3,4
Cr	0,3	1	65	3,3	217,7	65,3
Ni	1,7	10	36	5,8	21,2	3,6
Cd	1,5	4	11	2,9	7,3	2,5

T = Teneurs en métaux du champignon qui pousse sur le milieu témoin (ppm),

C1 = Teneurs en métaux du champignon qui pousse sur le milieu contenant 100 g/l de boue (ppm),

C2 = Teneurs en métaux du champignon qui pousse sur le milieu contenant 250 g/l de boue (ppm).

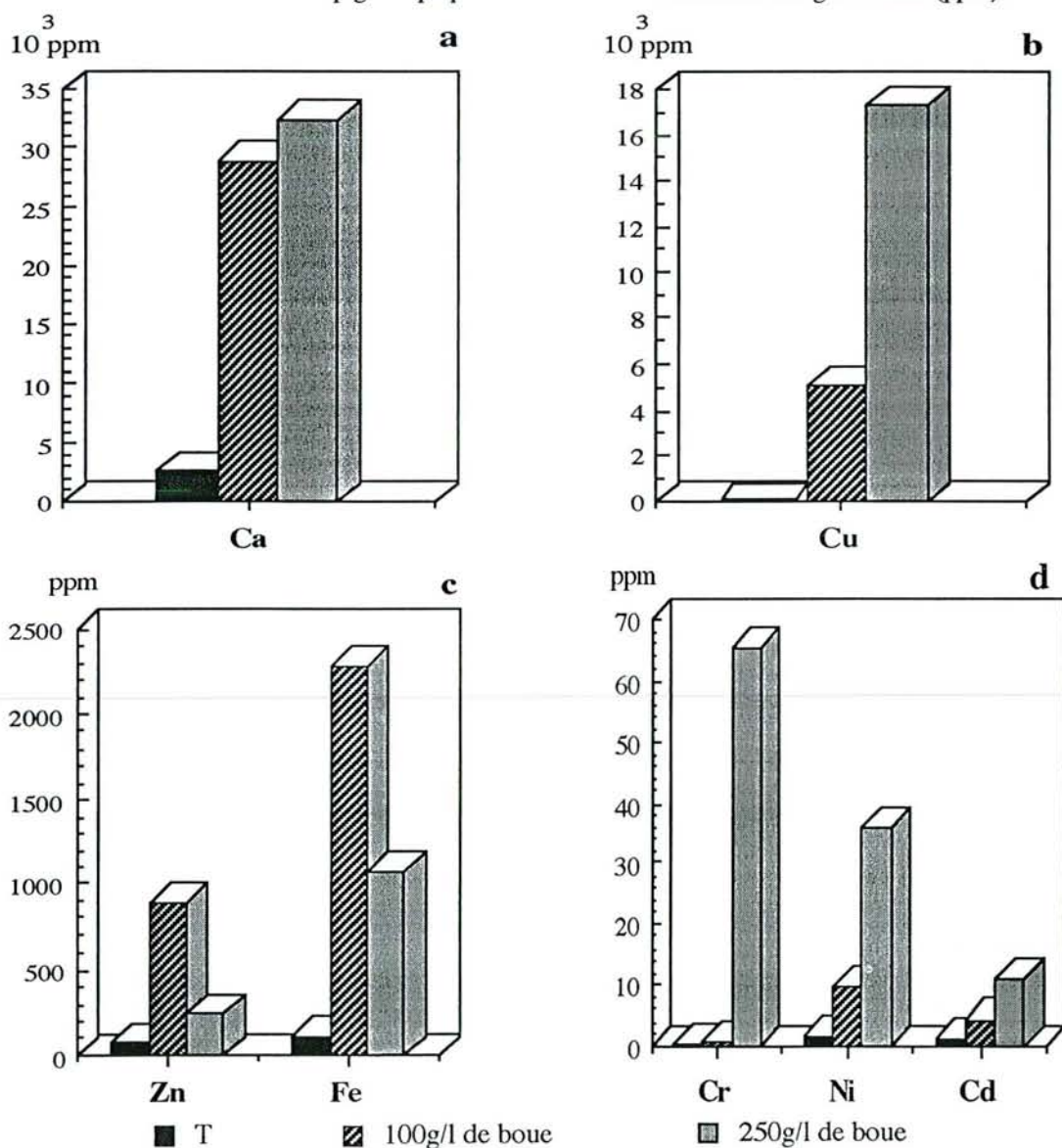


Figure III. 7 : Teneurs en Ca et en métaux lourds de *P. expansum* se développant sur le milieu témoin et les milieux pollués (100 g/l et 250 g/l de boue).

Les quantités de calcium et de nickel augmentent aussi avec l'accroissement de la quantité de boue dans le milieu de culture. Cependant, les teneurs en fer et en zinc du *P. expansum*, cultivé sur des milieux contenant 100 et 250 g/l de boue, baissent (figures III. 7 à III. 7 d). Ceci est probablement dû au mécanisme de remplacement d'un élément par d'autres (par exemple le fer par le cuivre, chrome, nickel, cadmium, ...).

III. 2. 6. La quantité de métaux lourds absorbée par une biomasse fongique :

L'incubation de *Penicillium* sp. dans un bac contenant le milieu liquide ayant 200 g de boue par litre est faite pour estimer la quantité de métaux absorbée par le champignon dans une condition non stérile. La biomasse obtenue a été un mélange de champignons variés (*Penicillium* sp., *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp.). Après quatre semaines, la biomasse totalise environ 25 grammes de matière sèche de champignons ayant poussé sur environ 15 litres de milieu liquide. La comparaison de la teneur en Ca et en métaux lourds de ce produit avec celui du témoin est présentée dans le tableau III. 3. La quantité totale des métaux dans le milieu de culture (TM) et la quantité de métaux retenue par la biomasse de produit fongique (TC) ont été calculées comme suit :

$$TM \text{ (gr)} = CM * 15$$

$$TC \text{ (gr)} = CC * 25,3 / 1000$$

où CM est la concentration des métaux lourds dans le milieu (mg/ kg),

CC est la concentration des métaux lourds de la biomasse de champignon (mg/ kg).

Les rapports des métaux retenus par la biomasse fongique sont résumés dans le tableau III. 3. Après 4 semaines d'incubation, le rapport CC/ CM atteint environ 16 %. Ceci indique que la concentration de métaux lourds dans la biomasse est 0,16 fois celle du milieu de culture. Cependant, la quantité totale des métaux lourds retenue par cette biomasse représente environ 0,03 % de celle du milieu de culture. Il semble clair que la décontamination des effluents industriels par les champignons sera un processus lent.

Tableau III. 3 : Comparaison de la teneur en métaux lourds du champignon avec celle du milieu de culture.

Métaux	CM ppm	CC ppm	CC/CM %	TM (mg)	TC (mg)	TC/ TM%
Ca	39 760	32 400	82	596 400	819,7	0,14
Fe	12 160	1 075	9	182 400	27,2	0,01
Cr	5 000	653	13	66 900	16,5	0,02
Zn	4 460	234	5	23 100	5,9	0,01
Cu	1 540	1 730,3	113	12 180	43,8	0,19
Ni	812	36,5	5	75 000	0,9	0,01
Cd	30	11,6	39	450	0,3	0,07
Σ ML	24 002	3 740,4	16	360 030	94,6	0,03

CM = Concentration de métaux dans le milieu,
 TM = Quantité de métal dans le bac,
 Σ ML = Teneur totale en métaux lourds.

CC = Teneur en métaux du champignon,
 TC = Quantité de métal pompé par les champignons,

III. 3. Conclusions :

D'après les résultats obtenus dans cette partie de travail on peut conclure que :

1. Les boues industrielles contenant des grandes quantités de métaux lourds sont toxiques et nuisent au développement normal des champignons,
2. Les doses élevées des métaux lourds affectent la population, la croissance des champignons et diminuent le taux de la biomasse produite,
3. La sensibilité des champignons aux excès de métaux lourds dépend de la nature de l'élément, du type du milieu et de la population fongique.

En effet la recherche des champignons résistants a exigé une longue période d'expérimentation. Dans la microflore des sols analysés, quelques espèces de champignons (*Penicillium* sp., *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp. *Papulaspora* sp.) présentent une forte résistance quand elles sont cultivées sur des milieux malt-gélosés mélangés avec 250 g/l de boues industrielles contenant la quantité élevée de certains métaux lourds.

Parmi les champignons isolés, *Penicillium expansum* , présente une capacité importante de rétention des métaux lourds par rapport à d'autres champignons.

Cependant, la quantité de métaux lourds retenue, après quatre semaines d'incubation, est faible pour envisager une décontamination totale par les champignons. C'est pour cette raison que l'alternative de la décontamination du sol par les plantes a été expérimentée.



CHAPITRE IV

BIO-ACCUMULATION DES METAUX LOURDS PAR LES PLANTES

IV. 1. Matériel et méthodes :

IV. 1. 1. Germination et plantation dans les boues :

Les semences de tomate, carottes et cresson alénois ont été immergées dans l'eau durant une nuit. Elles sont ensemencées dans des pots de 10*10*12 cm remplis par de la tourbe (milieu témoin) ou un mélange de tourbe, ayant des quantités croissantes de boue (de 10 à 100 %). Chaque traitement comporte 5 pots et chaque pot contient 5 graines. Ces pots sont mis dans une pièce thermostatée à 28 °C et éclairée pendant 16 heures par jour par des panneaux de tubes fluorescents. Afin d'éviter le lessivage du milieu par l'arrosage, les pots sont placés dans des plateaux de 2 cm de profondeur et le niveau de l'eau est maintenu à un cm de hauteur. Le niveau de l'eau a été contrôlé périodiquement.

Après avoir semé les graines dans le milieu témoin, les jeunes plants âgés de 15 jours ont été transplantés dans les pots contenant le milieu témoin ou contaminé afin d'examiner la tolérance et l'accumulation des métaux lourds par les plantes. Le développement et la survie de ces végétaux ont été suivis en fonction de différentes concentrations de boue.

IV. 1. 2. Mesure de la matière sèche et de l'absorption des métaux lourds par les plantes:

Les jeunes plantes âgées de 15 jours ont été transplantées dans le milieu témoin et le milieu contaminé. Au bout de 7 semaines, on a récolté les plantes, débarrassé les racines du terreau par agitation dans l'eau. Puis, les parties aériennes et les racines ont été séparées, lavées et séchées à l'air ensuite à l'étuve à 70° C pendant 48 heures. La matière sèche des parties épigées et hypogées est pesée. Les métaux lourds ont été quantifiés par la méthode d'absorption atomique.

IV. 2. Résultats :

IV. 2. 1. Teneur en métaux lourds et pH des milieux de culture :

Les milieux de culture sur lesquels poussent les plantes sont des terreaux ayant des quantités croissantes de boue allant de 0 à 100 %. Les teneurs en métaux lourds dans les différents milieux de culture sont présentées dans le tableau IV. 1. Le pH du milieu de culture augmente de 5,5 pour le milieu témoin à 7,5 pour 100% de boue (figure IV. 1).

Tableau IV. 1 : Teneurs en métaux lourds présents dans les différents milieux de culture utilisés (ppm)

% de boues	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Cd	Σ M. L.
Témoin	1 856,0	742,0	89,4	0,5	34,1	1,0	2 723,0
10	7 750,4	2 897,8	850,5	406,5	2 530,7	15,9	14 451,8
20	13 644,8	5 053,6	1 611,5	812,4	5 027,3	30,8	26 180,4
30	19 539,2	7 209,4	2 372,6	1 218,4	7 523,9	45,8	38 809,3
40	25 433,6	9 365,2	3 133,6	1 624,3	10 020,5	60,6	49 637,8
50	31 328,0	11 521,0	3 894,7	2 030,3	12 517,1	75,5	61 366,6
60	37 222,4	13 676,8	4 655,8	2 436,2	15 013,6	90,4	73 095,2
70	43 116,8	15 832,6	5 416,8	2 842,2	17 510,2	105,3	84 823,9

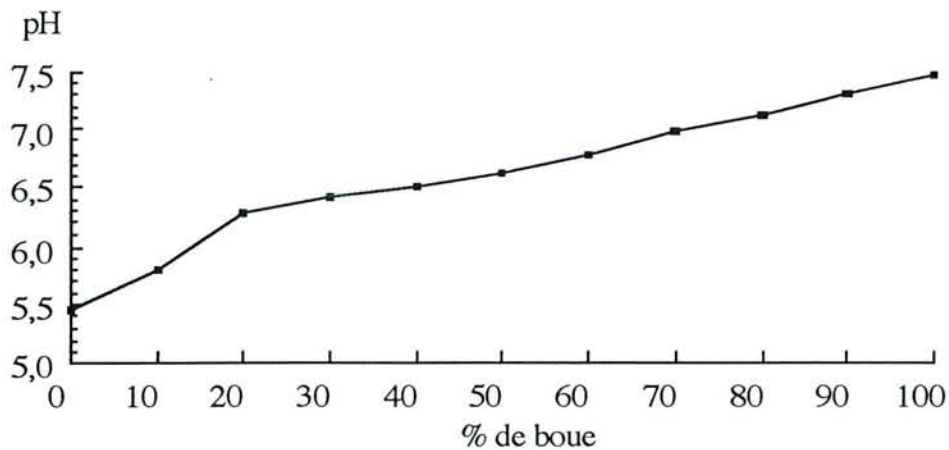


Figure IV. 1 : Variation du pH des milieux de culture.

IV. 2. 2. Germination des graines dans les boues :

La tomate a été choisie comme plante indicatrice. Après avoir semé des graines dans le milieu témoin (tourbe) et les milieux contenant de 10 à 50 % de boue, on a mesuré le pourcentage de germination de ces graines en fonction du temps. Durant 24 jours, on a observé une inhibition de la germination dans les différents milieux contaminés (figure IV. 2).

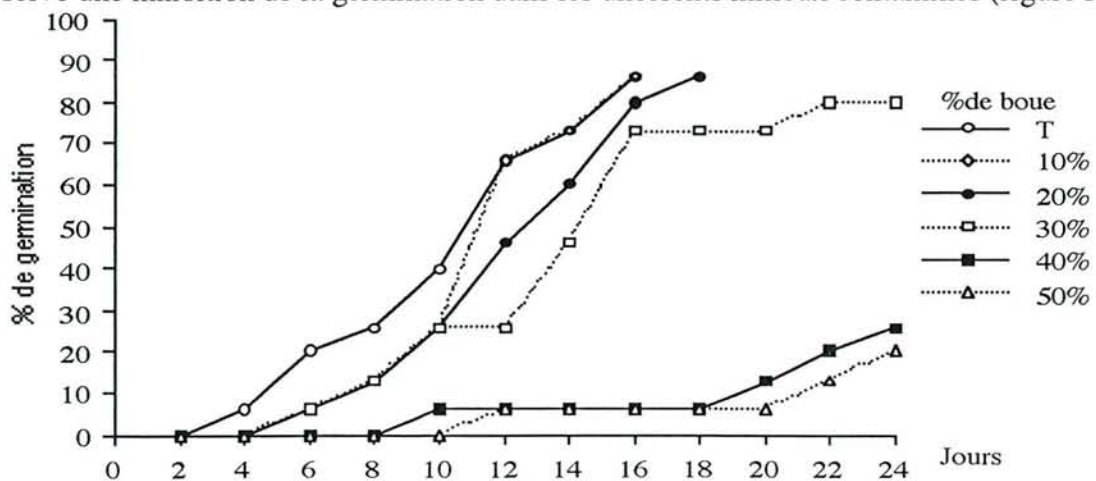


Figure IV. 2 : Germination des graines de tomate dans différents milieux.

Le tableau IV. 2 groupe la corrélation linéaire entre le pourcentage de germination 'G' et le temps 't'. Les résultats tendent à montrer qu'une corrélation entre le pourcentage de germination en fonction de temps est acceptable pour les milieux de culture contenant jusque 30 % de boue. La corrélation pour les milieux contenant plus de 30 % de boue ne peut être prise en considération. Il semble important de souligner que le temps nécessaire pour la germination augmente rapidement pour des milieux de culture ayant plus de 30 % de boues.

Tableau IV. 2 : Corrélation entre le pourcentage de germination 'G' de tomate et le temps (t).

Milieu	Équation	Coefficient de corrélation
Témoin	$G = -18,71 + 6,48 t$	$R^2 = 0,98$
10 % de boue	$G = -28,39 + 6,90 t$	$R^2 = 0,90$
20 % de boue	$G = -25,19 + 6,04 t$	$R^2 = 0,95$
30 % boue	$G = -16,17 + 4,42 t$	$R^2 = 0,94$
40 % boue	$G = - 5,92 + 1,03 t$	$R^2 = 0,79$
50 % boue	$G = -4,45 + 0,75 t$	$R^2 = 0,76$

En effectuant les mêmes expériences avec des graines de cresson alénois, on a constaté que la germination est peu affectée par le milieu ayant une teneur de boue inférieure à 40 % (figure IV. 3). Dans le cas de la carotte, les effets sont plus sensibles que dans le cas de la tomate et celui du cresson alénois. En effet, la germination des graines de carottes est retardée dans les milieux contenant plus de 10 % de boue (figure VI. 4). Le pourcentage des graines qui germent dans le milieu contenant 30 % de boue, représenté par les équations suivantes, se distingue par un taux remarquable de la germination de cresson alénois dans ce milieu. La dose sub-létale de boue est 80, 50 et 40 % pour le cresson, la tomate et la carotte, respectivement.

Tomate	$G = -16,17 + 4,42t$	$R^2 = 0,93$
Carotte	$G = -15,18 + 2,22t$	$R^2 = 0,87$
Cresson alénois	$G = -45,33 + 23,25t$	$R^2 = 0,998$

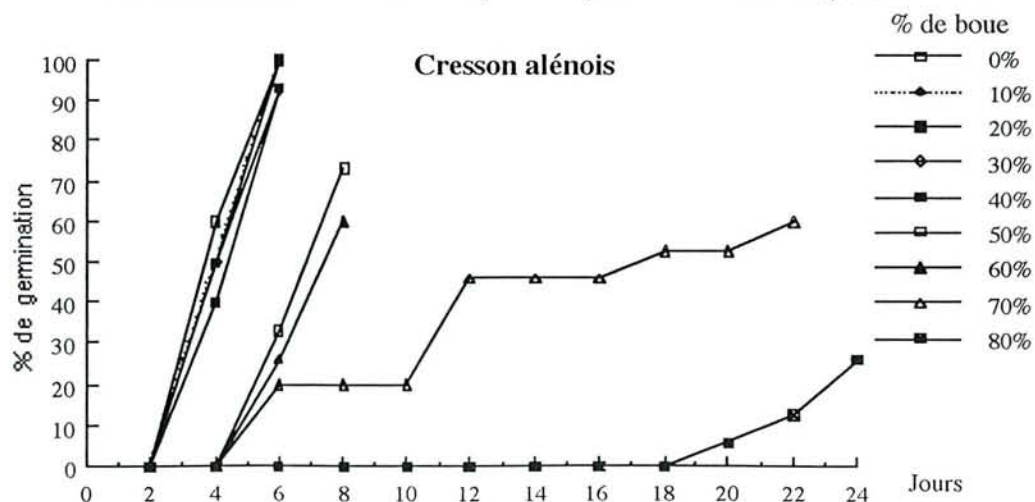


Figure IV. 3 : Germination des graines de cresson alénois dans différents milieux.

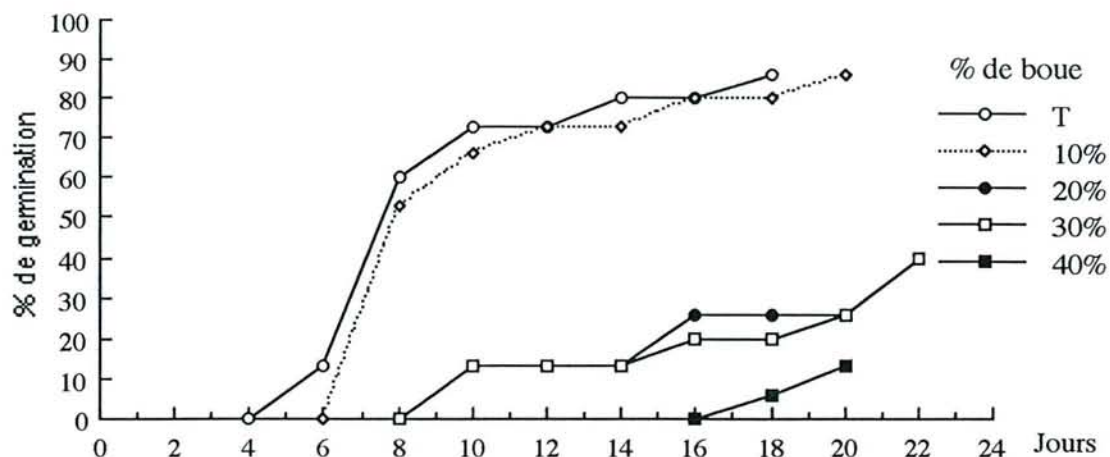


Figure IV. 4 : Germination des graines de carotte dans différents milieux.

IV. 2. 3. Résistance et développement des plantes dans les boues :

La transplantation des jeunes plants de tomate, de cresson alénois et de carotte dans les milieux témoins ou contaminés entraîne une inhibition de leur croissance sur les milieux contenant plus de 30 % de boue avec une dose sub-létale à 50 % pour les plantes expérimentées (figures IV. 5, IV. 6 et IV. 7).

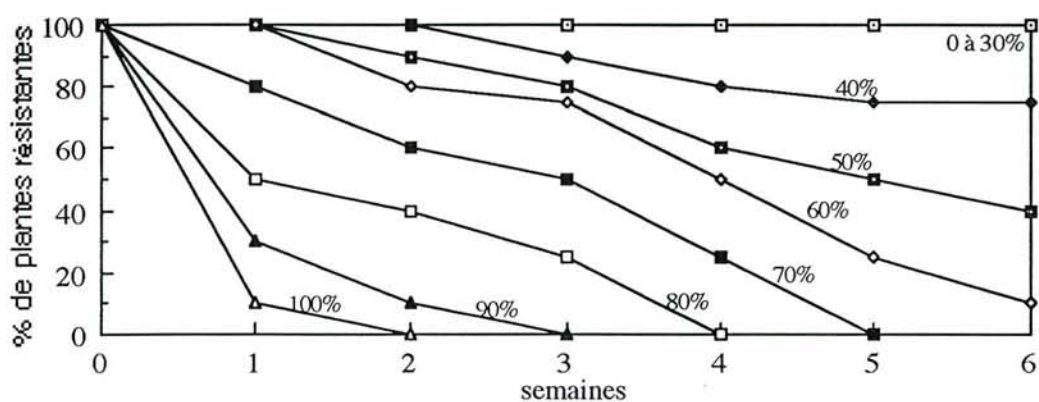


Figure IV. 5 : Résistance des jeunes plants de tomate dans les boues.

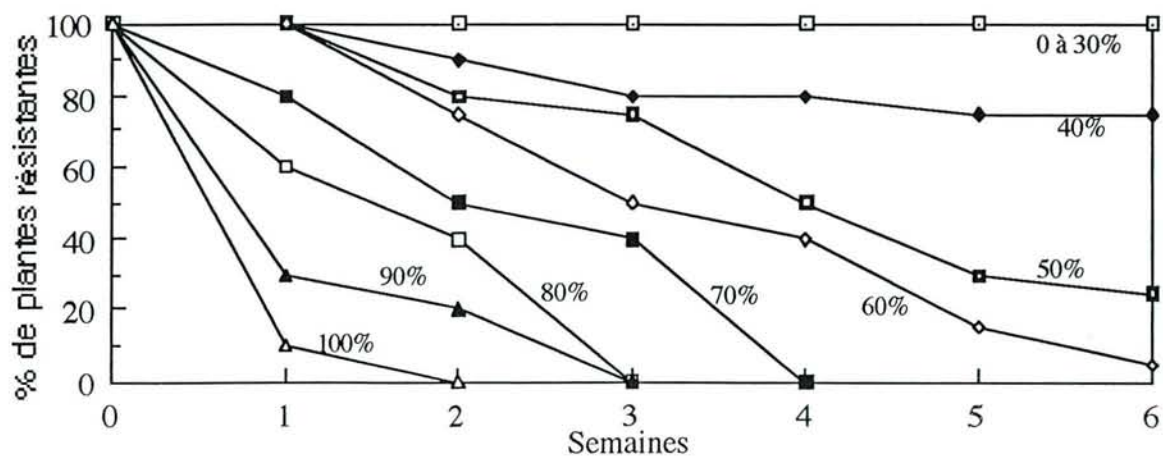


Figure IV. 6 : Résistance des jeunes plants de carotte dans les boues.

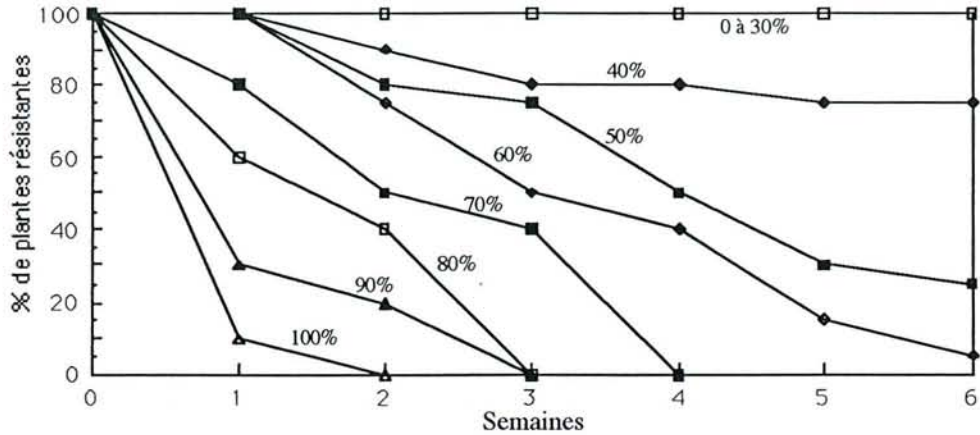


Figure IV. 7 : Résistance des jeunes plants de cresson alénois dans les boues.

Malgré la tolérance notable des graines de cresson alénois au cours de leur germination dans les milieux ayant jusque 50 % de boue, la croissance des jeunes plantes a été fortement inhibée dans les milieux ayant plus de 40 % de boue.

On a constaté que la croissance des plantes, surtout au niveau des racines, est d'autant plus inhibée que le pourcentage de boue dans les milieux de culture est important. On a également observé que l'augmentation de dose de boue dans le sol (de 5 à 35 %) provoque la diminution de biomasse (figure IV. 8), de la taille des plantes et celle des feuilles (figure IV. 9).

Le nombre de feuilles et de boutons augmente et l'épanouissement des fleurs est retardé lorsque la concentration de la boue croît dans le milieu. (figure IV. 10). La sclérose des feuilles se manifeste dans les cas des tomates cultivées dans des sols contenant plus de 35 % de boue. Ces phénomènes sont probablement dus à l'influence des métaux lourds sur les réactions enzymatiques et la synergie ou l'antagonisme entre les métaux lourds et les éléments nécessaires à la nutrition de la plante.

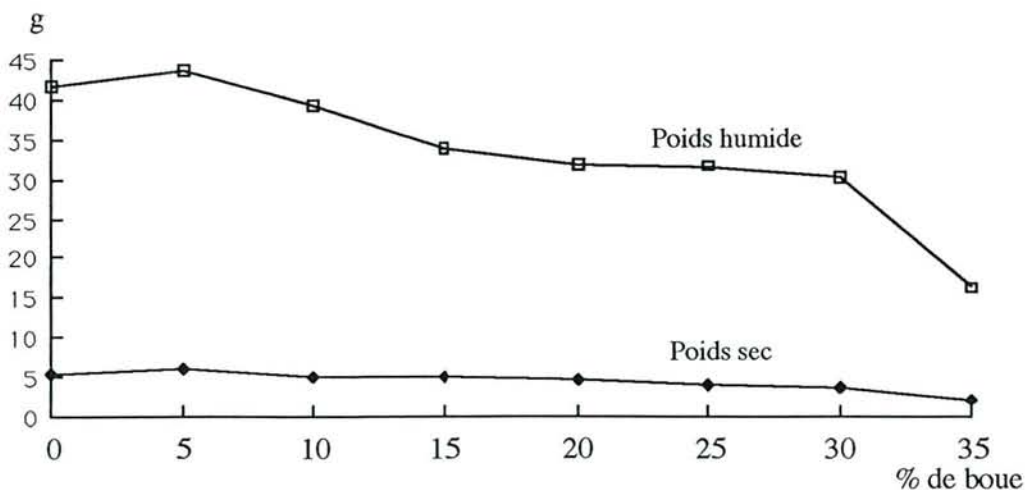


Figure IV. 8 : Effet de la concentration croissante de boue sur la biomasse de tomate.

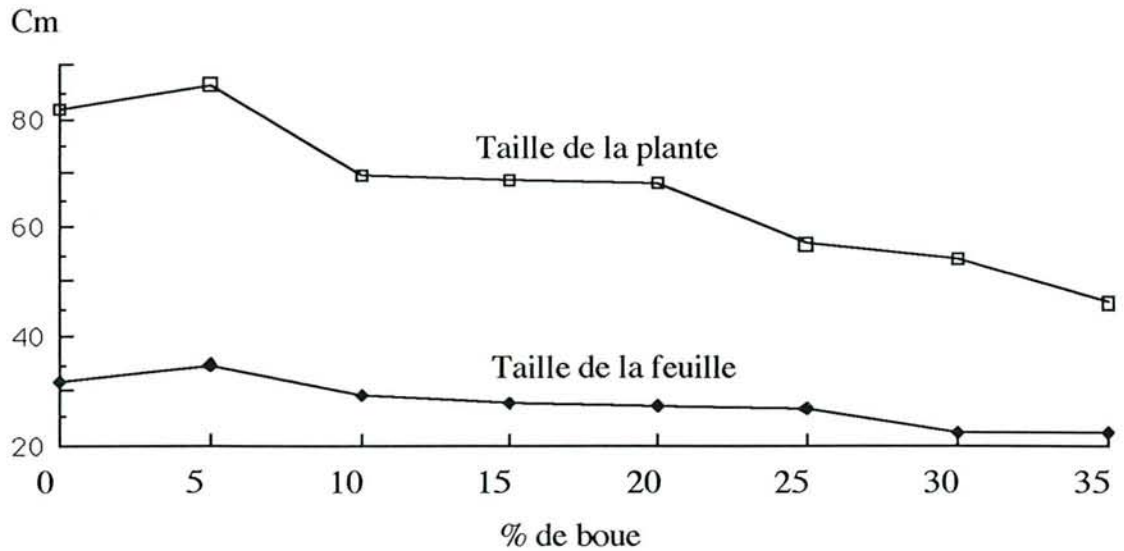


Figure IV. 9 : Effet de la concentration croissante de boue sur la taille de tomate.

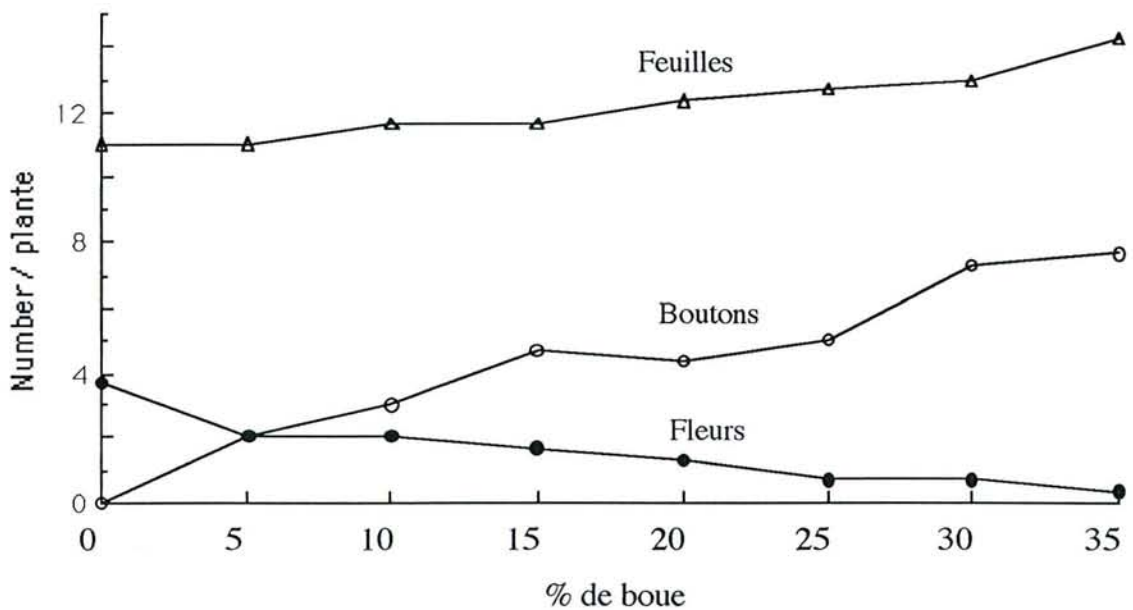


Figure IV. 10 : Effet de la concentration croissante de boue sur les nombres de feuilles et de fleurs.

IV. 2. 4. Accumulation des métaux lourds par les plantes testées :

Les résultats des analyses des tomates, des carottes et des arroches cultivées sur milieu témoin et milieu contenant 30 % de boue (Tableau IV. 3 et figure IV. 11) présentent l'ampleur de l'accumulation des métaux lourds par espèce testée et aussi la variation de cette teneur dans les parties épigées et hypogées.

Il semble que la tomate concentre préférentiellement le zinc et l'ensemble des métaux examinés, alors que l'arroche se distingue par la concentration de cadmium et de cuivre et la carotte assimile plus de nickel et chrome.

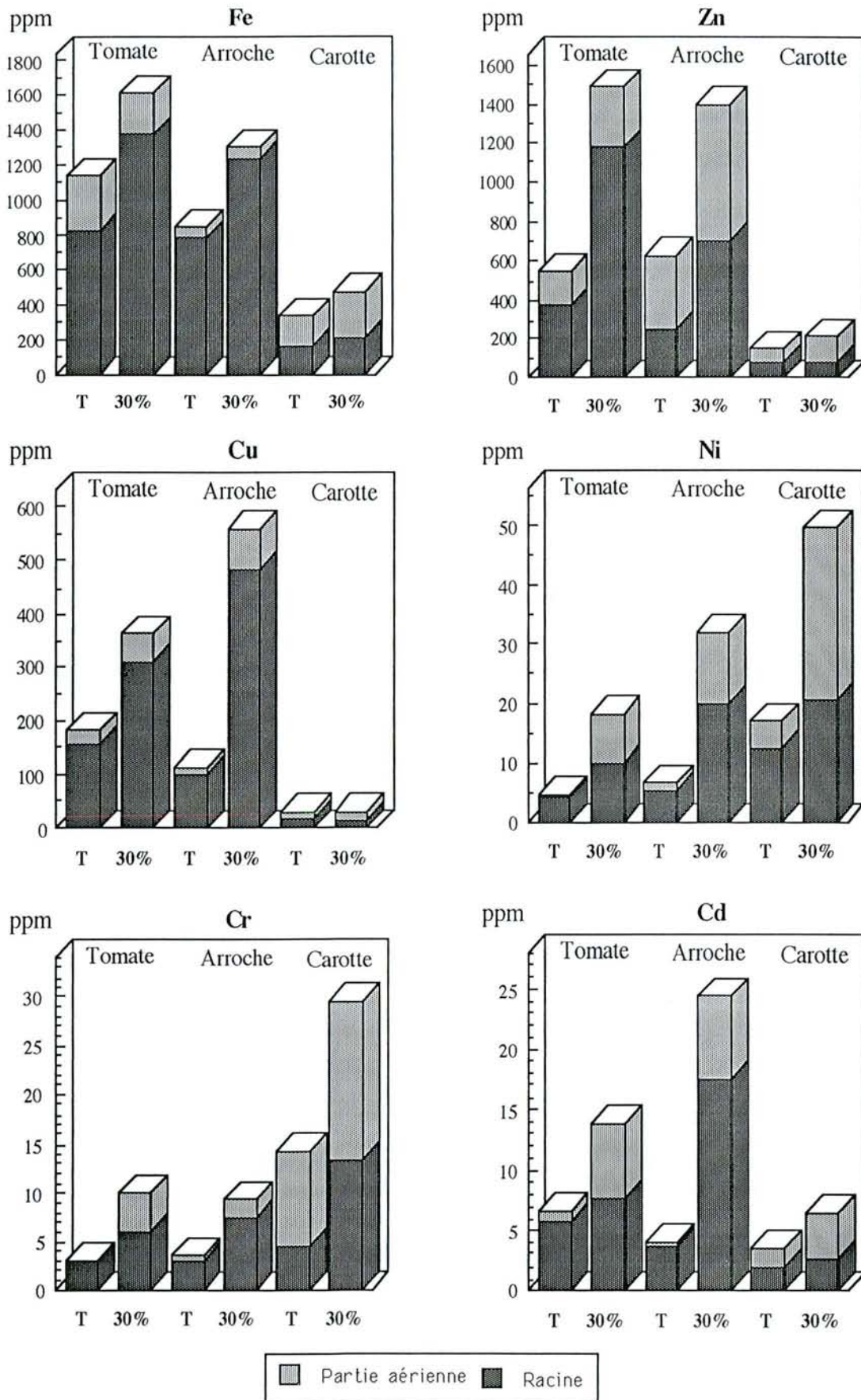


Figure IV. 11 : Teneur en métaux lourds des plantes qui poussent sur le milieu témoin et le milieu contenant 30% de boue.

Tableau IV. 3 : Accumulation des métaux lourds par les parties épigée et hypogée des plantes cultivées dans le milieu contenant 30 % de boue.

Plante	Partie	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Cd	Σ ML	%
Tomate	Epigée	240	312	51	8	4,0	6,3	621,6	17,7
	Hypogée	1 369	1 180	312	10	6,1	7,6	2 884,6	82,3
Arroche	Epigée	62	688	75	12	1,9	6,9	845,7	25,5
	Hypogée	1 232	707	483	20	7,5	17,5	2 466,9	74,5
Carotte	Epigée	260	134	20	29	16,2	3,9	463,1	57,2
	Hypogée	218	81	11	20	13,3	2,7	346,3	42,8

* Les chiffres en gras sont les valeurs maximum dans la colonne.

ML = métaux lourds

On peut présenter pour les plantes testées, la capacité de rétention de différents éléments dans la partie aérienne et celle des racines par ordre décroissant :

Partie aérienne

Cd arroche > tomate > carotte
 Cr carotte > tomate > arroche
 Ni carotte > arroche > tomate
 Cu arroche > tomate > carotte
 Zn arroche > tomate > carotte
 Fe carotte > tomate > arroche
 M.L. arroche > tomate > carotte

Racine

arroche > tomate > carotte
 carotte > arroche > tomate
 carotte > arroche > tomate
 arroche > tomate > carotte
 tomate > arroche > carotte
 tomate > arroche > carotte
 tomate > arroche > carotte

L'étude comparative de distribution des métaux lourds dans les parties de tomate cultivée sur le sol contenant 30 % de boue (figure IV. 12), confirme les résultats de l'étude bibliographique en ce qui concerne la forte accumulation de métaux lourds par la racine et le peu de contamination de fruit en ces éléments (Page et al., 1981; Peterson, 1986).

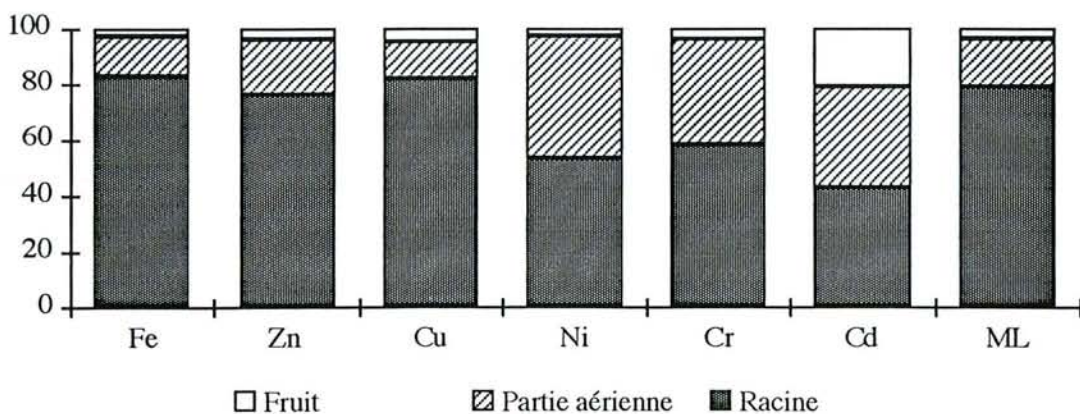


Figure IV. 12 : Répartition des métaux lourds dans les différentes parties de tomate cultivée dans le sol contaminé.

La distribution exceptionnelle du cadmium, peut être expliquée par sa propriété physiologique de répartition facile dans les tissus végétaux. Mais la comparaison de la teneur en métaux lourds du sol utilisé à l'abondance naturelle de la couche terrestre, définie par le Clarke, montre que lorsque la concentration de cadmium dans le sol contaminé est forte (tableau IV. 4), la racine ne réussit pas à barrer le cadmium.

Tableau IV. 4 : Comparaison entre la teneur en métaux lourds de sol contenant 30 % de boue et l'abondance naturelle.

	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Cd
Sol	19539,2	7209,4	2372,58	1218,38	7523,87	45,7
Clarke	56300	70	55	75	100	0,2
Sol/Clarke	0,35	102,99	43,14	16,25	75,24	228,50

L'analyse comparative de l'accumulation des métaux lourds par la partie épigée et la partie hypogée des plantes, qui poussent sur le milieu contaminé (30 % de boue), indique une forte rétention des métaux lourds dans la racine de tomate et d'arroche. En revanche la carotte accumule la plupart des métaux lourds dans la racine. Plus de 75 % de métaux lourds assimilés par la tomate et l'arroche sont retenus par les racines, alors que dans le cas de la carotte, environ 43 % des métaux lourds assimilés par la plante se trouvent dans les racines. (Tableau IV. 5).

Tableau IV. 5 : Rapport de la teneur en métaux lourds, racine/ partie aérienne des plantes contaminées.

	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Cd	ML
Tomate	5,70	3,78	6,11	1,21	1,53	1,21	4,64
Arroche	19,90	1,03	6,44	1,66	3,95	2,54	2,92
Carotte	0,84	0,60	0,57	0,70	0,82	0,69	0,75

La diminution des teneurs en métaux lourds dans les parties consommables des végétaux (la partie aérienne de tomate et d'arroche et la racine de carotte), est intéressante si l'on considère la chaîne alimentaire. Cependant, la rétention des métaux par les racines, présente une difficulté dans le cas de bio - décontamination du sol.

Pour comparer l'accumulation des éléments par les plantes, on a suggéré le facteur d'assimilation α (teneur en métaux lourds des plantes cultivées dans le milieu contaminé par rapport à celle de plantes témoins). Au cours de ce travail, ce facteur est souvent supérieur à un (tableau IV. 6).

Le facteur d'absorption β , présente le rapport de la teneur des métaux lourds retenus par les racines par rapport à celle des métaux lourds dans le milieu (tableau IV. 7). Pour toutes les espèces testées, on a observé que ce facteur varie de 0,002 à 0,38.

Tableau IV. 6 : Facteur d'assimilation des métaux lourds par la partie aérienne et la racine des plantes testées

	Plante	α Fe	α Zn	α Cu	α Ni	α Cr	α Cd
Partie aérienne	Tomate	0,76	1,79	1,87	82,00*	40,00	7,00
	Arroche	0,94	1,82	5,51	10,00	4,75	13,80
	Carotte	1,46	1,90	1,72	6,43	1,66	2,43
Racine	Tomate	1,68	3,16	2,01	2,25	2,03	1,31
	Arroche	1,58	2,84	4,85	3,62	2,50	4,86
	Carotte	1,34	1,08	0,68	1,64	2,96	1,44

* Les chiffres en gras sont les valeurs maximales.

Tableau IV. 7 : Facteur d'absorption des métaux lourds par les racines des plantes testées.

Plante	β Fe	β Zn	β Cu	β Ni	β Cr	β Cd	$\beta \Sigma$ ML
Tomate	0,07	0,16	0,132	0,008	0,001	0,17	0,08
Arroche	0,06	0,10	0,204	0,016	0,001	0,38	0,07
Carotte	0,01	0,01	0,005	0,017	0,002	0,06	0,01

Le tableau IV. 8 regroupe les informations sur les teneurs en métaux lourds du sol témoin, du sol contaminé et leurs rapports ainsi que celles des plantes témoins, plantes contaminées et leurs rapports. Ce tableau permet de quantifier l'impact de l'augmentation de la concentration de métaux lourds dans le sol sur l'accroissement de la capacité de rétention des plantes.

Tableau IV. 8 : Comparaison des taux de teneur en métaux lourds du sol et de la racine de tomate.

	ST	SC	SC/ST	PT	PC	PC/PT
Fe	1 856,0	19 539,2	10,5	813,0	1 369,0	1,7
Zn	74,2	7 209,4	97,2	374,0	1 180,0	3,2
Cu	89,4	2 372,6	26,5	155,0	312,0	2,0
Ni	0,5	1 218,4	2 256,3	4,4	9,9	2,3
Cr	34,1	7 523,9	220,6	3,0	6,1	2,0
Cd	1,0	45,7	45,7	5,8	7,6	1,3
Σ ML	2 055,2	37 909,1	18,4	1 355,2	2 884,6	2,1

ST : Concentration de métaux dans le sol témoin

SC : Concentration de métaux dans le sol contaminé

PT : Teneur en métaux de plante témoin

PC : Teneur en métaux de plante contaminée

Ce tableau indique que l'augmentation de la teneur en nickel dans le sol par un facteur de 2 256 se traduit par un accroissement de la capacité de rétention de la plante contaminé par un facteur égal à 2,3. L'augmentation des teneurs des autres éléments dans le sol produit un effet similaire sur la capacité de rétention des plantes contaminées.

Ceci confirme que les plantes possèdent une auto - protection assez efficace contre la pollution du sol. Cependant, le doublement des teneurs en métaux lourds et la substitution du fer par d'autres métaux lourds met en danger la chaîne alimentaire.

IV. 3. Conclusions :

Les expériences effectuées sur l'accumulation des métaux lourds par les plantes cultivées permettent d'envisager l'utilisation des végétaux supérieurs en bio-décontamination des sols pollués par les éléments toxiques.

La concentration élevée des boues industrielles, contenant des métaux lourds, dans le sol, entraîne une inhibition de la germination et de la croissance des plantes.

On a constaté que la croissance des plantes, surtout au niveau des racines, est d'autant plus inhibée que le pourcentage de boue dans les milieux de culture est important. *photos*

La sensibilité des plantes aux milieux pollués varie en fonction de l'espèce et de la concentration des éléments toxiques.

Les plantes testées tomate, carotte, et arroche (*Atriplex hastata*) montrent une tolérance évidente et elles croissent bien sur les milieux ayant 30 % de boue contenant, 45 ppm Cd, 1 218 ppm Ni, 2 310 ppm Cu, 6 690 ppm Zn, 7 500 ppm Cr et 18 240 ppm Fe.

carotte pur
On a également observé que l'augmentation de la dose de boue dans le sol (de 5 à 35%) provoque la diminution du poids, de la taille des plantes et de la taille des feuilles. Les feuilles et les boutons floraux sont plus abondants lorsque la concentration de la boue augmente, mais une inhibition de l'épanouissement des fleurs se manifeste avec l'augmentation de la dose de boue. La sclérose des feuilles se présente aussi sur les tomates cultivées dans les sols contenant plus de 35 % de boue.

L'absorption et l'accumulation des métaux lourds par les plantes dépendent à la fois de l'espèce végétale et de l'élément chimique considéré ou encore du rapport des concentrations entre certains métaux. Ainsi, un niveau élevé en certains métaux dans le milieu entraîne une diminution de l'incorporation du fer. On a constaté que l'arroche (*Atriplex hastata*) est capable d'accumuler des quantités importantes de cadmium, de cuivre et de zinc, et la carotte peut absorber plus de chrome et de nickel.

L'importance de la distribution dans les différentes parties des plantes est fonction de la nature de l'élément. En général, les teneurs des métaux toxiques sont plus élevées dans les racines que dans les tiges et les feuilles (exception pour la carotte).

Les facteurs d'absorption mesurés étaient toujours inférieurs à 1, ceci confirme l'existence de mécanismes de protection chez les végétaux, réduisant le passage sol-plante des éléments.

A. Résistance et développement des plantes dans les boues:

A1: Tomate

A2: Arroche

A3: Carotte

A4: Epinard

**B. Inhibition de développement des racines en addition
de % de boue dans le sol:**

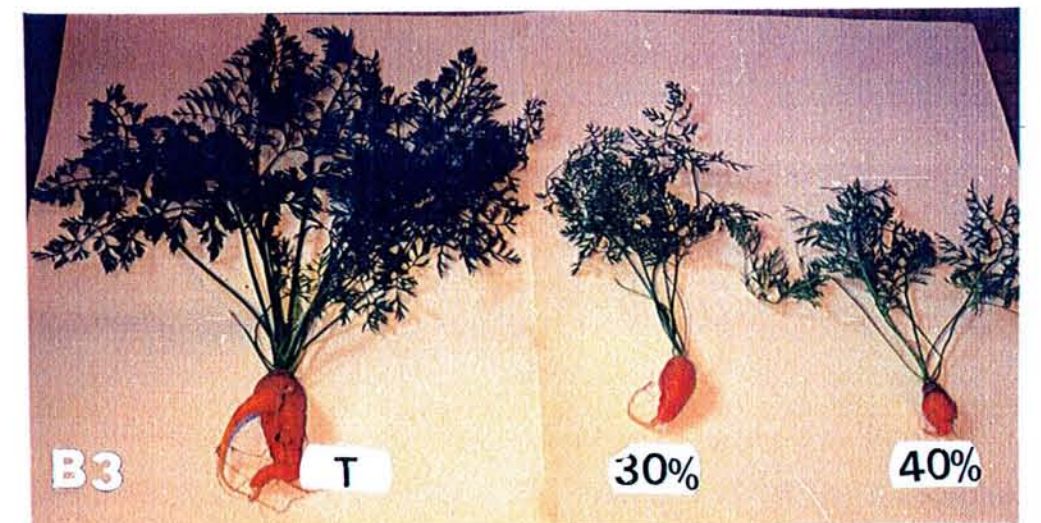
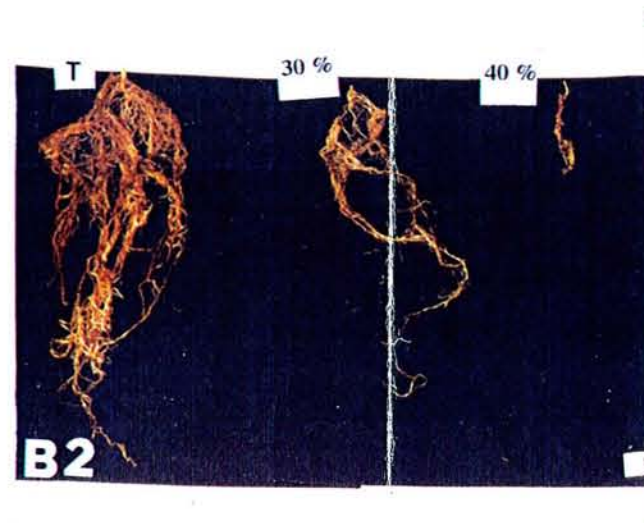
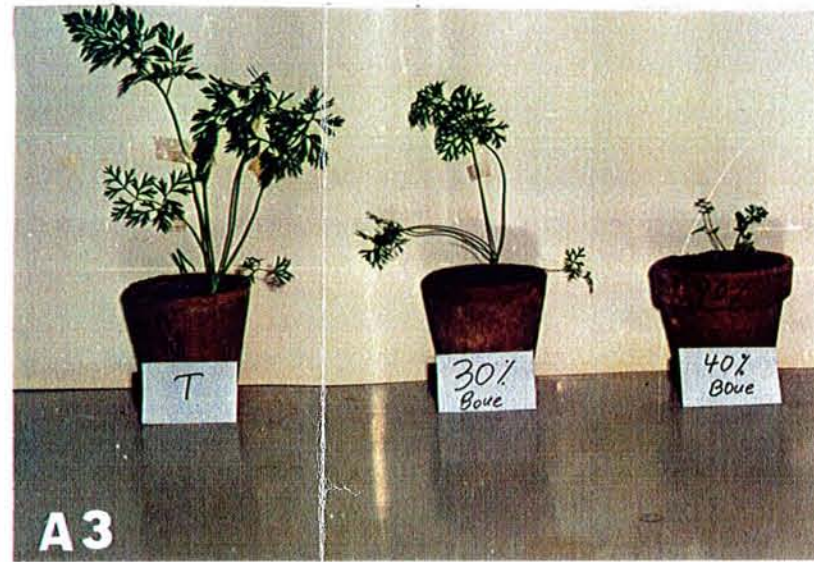
B1: Tomate

B2: Arroche

B3: Carotte

**C. Apparition de sclérose des feuilles de tomates cultivées
dans des sols contenant plus de 35 % de boue.**

D. Culture de tomate dans la boue



CHAPITRE V

Action individuelle d'un métal lourd sur la plante

V. 1. Matériel et méthodes

Cette étude est réalisée afin de déterminer l'effet d'un métal lourd sur la germination et la croissance des plantes. Les expériences ont été effectuées en milieu nutritif stérilisé sans ajout des matières organiques à pH constant et égale à 7. Les tests sont faites avec les grains et les plants de tomate.

Le cadmium a été choisi en raison de sa facilité d'assimilation par les plantes. L'influence des différentes concentrations de nitrate et de chlorure de cadmium a été déterminé sur la germination, la croissance et répartition des certains métaux dans la partie aérienne et les racines de tomate.

Le milieu de culture pour la germination est constitué de la solution nutritive 'Hogland' (cf. annexe 1) à la quelle on a ajouté 8 g/l d'agar-agar. La germination a été réalisée dans des boîtes de Pétri contenant le milieu nutritif témoin ou les milieux contenant le nitrate de cadmium à base de 2 à 160 mg/l Cd^{2+} . Chaque traitement comporte 5 boîtes de Pétri et chaque boîte contient 20 graines.

La croissance des plantes a été mesurée par implantation des jeunes plants de tomate, âgés de 15 jours, dans des flacons de 120 ml. Ces derniers ont été au préalable lavés par l'eau distillée et remplis par la solution nutritive témoin ou la solution contenant le nitrate ou le chlorure de cadmium ayant des concentrations de Cd^{2+} de 2 à 160 mg/l.

Les expériences ont été effectuées dans une pièce thermostatée à 28 °C et éclairée pendant 16 heures par jour. Au bout de 8 semaines on a quantifié la matière sèche des plantes et comparé la diminution de la biomasse produite en fonction de la concentration de nitrate ou de chlorure de cadmium. L'accumulation de cadmium et de certains métaux indispensables (K, Ca, Mg, Fe, Zn, et Cu) a été quantifiée et comparée pour les racines et les parties aériennes des tomates traitées par le nitrate et le chlorure.

V. 2. Résultats

V. 2. 1. Effet du cadmium sur germination des graines

Le pourcentage de germination de graines de tomate dans le milieu gélosé témoin et les milieux contenant du $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ est regroupé dans la figure V.1.

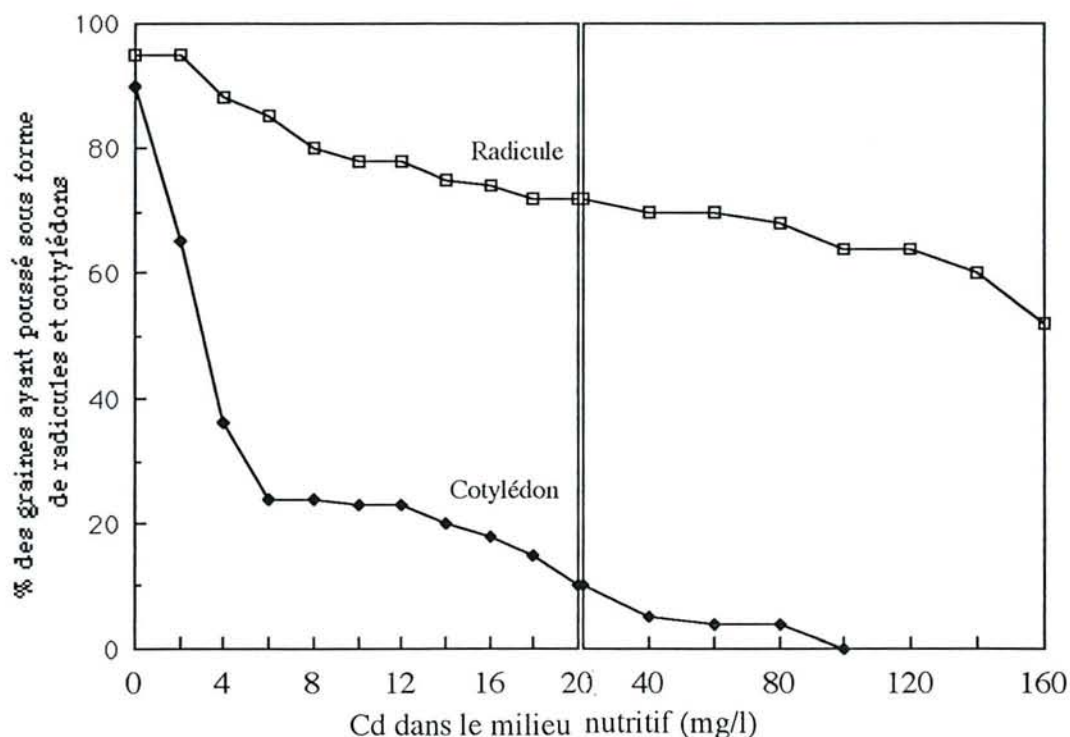


Fig. V. 1 : Influence de la dose croissante de Cd^{2+} sur la germination de tomate

Ces résultats montrent une inhibition rapide de la germination des graines en fonction de la dose croissante de Cd^{2+} .

La différence entre les réactions des radicules et des cotylédons aux doses de cadmium est très nette. L'action sur les cotylédons est plus importante que sur les radicules. En effet, pour des doses supérieures à 100 mg/l de Cd on n'observe plus de cotylédons.

V. 2. 2. Effet du cadmium sur la croissance des plantes

L'implantation des jeunes plants de tomate dans le milieu nutritif témoin et les milieux contenant des doses croissantes de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ou CdCl_2 allant de 15 à 200 mg/l Cd^{2+} a montré un effet inhibiteur notable du cadmium sur la croissance des plantes.

Les doses sub-létales sont de 180 mg/l pour les milieux contenant le chlorure de cadmium et 120 mg/l en cas de traitement par nitrate (figure V. 2).

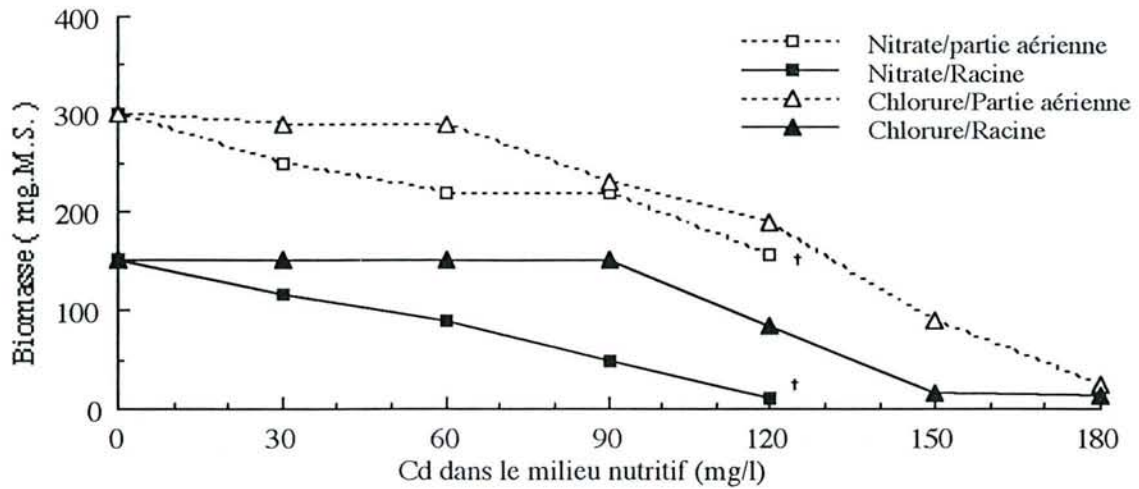


Figure V. 2: Croissance de la tomate en fonction de la concentration de cadmium (nitrate ou chlorure) dans le milieu nutritif

L'effet toxique du nitrate et du chlorure de cadmium sur la croissance de la tomate peut être quantifié par le taux de diminution de la biomasse produite (D):

$$D = \frac{(Mt - Mc) * 100}{Mt}$$

- Où M = biomasse produite (matière sèche)
 t = plante se développant dans le milieu témoin,
 c = plante se développant dans le milieu contaminé

La variation de ce coefficient en fonction de la concentration de Cd^{2+} , dans le milieu nutritif est montrée dans la figure V.3.

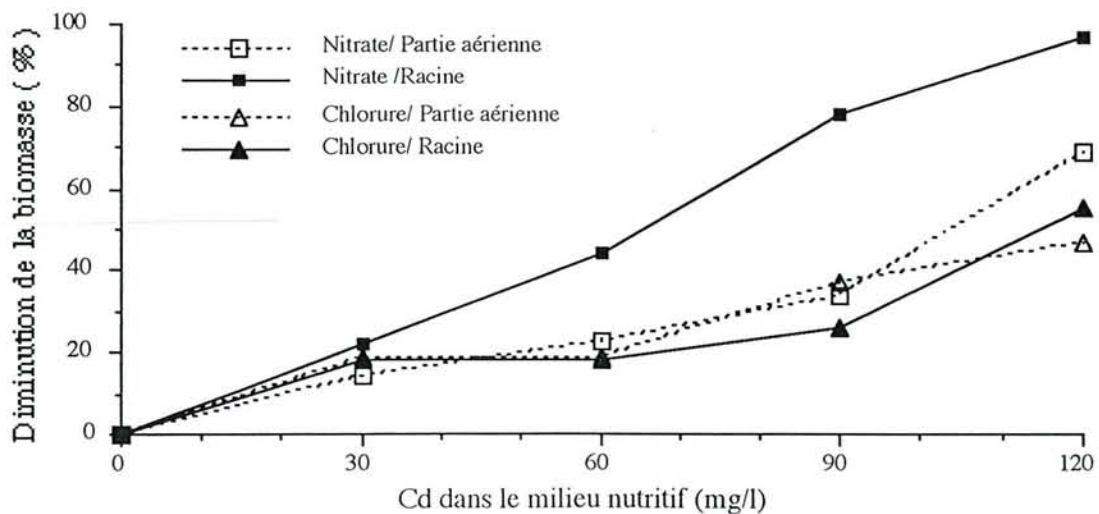


Figure V. 3 : Effet toxique de Cd^{2+} sur la tomate.

Selon ces courbes la diminution de la biomasse produite en fonction de la dose de Cd peut être représentée par les équations suivantes:

Racine, nitrate	$D = 0,83 m - 1,80$	$R^2 = 0,99$
Partie aérienne, nitrate	$D = 0,53 m - 3,60$	$R^2 = 0,92$
Racine, chlorure	$D = 0,39 m - 0,20$	$R^2 = 0,86$
Partie aérienne, chlorure	$D = 0,37 m + 2,00$	$R^2 = 0,94$

Où D = diminution de la biomasse produite
 m = dose de cadmium dans le milieu nutritif
 R = coefficient de corrélation

Donc, le nitrate de cadmium présente une toxicité plus notable que le chlorure et les racines sont plus sensibles que les parties aériennes.

V. 2. 3. Degré d'accumulation du cadmium par les tomates cultivées dans le milieu contaminé

Dans la racine, l'accumulation de cadmium augmente en fonction de la concentration de l'élément dans le milieu nutritif. Cependant, la présence du cadmium dans les tomates est plus importante en utilisant un milieu de nitrate que celui de chlorures (figure V. 4).

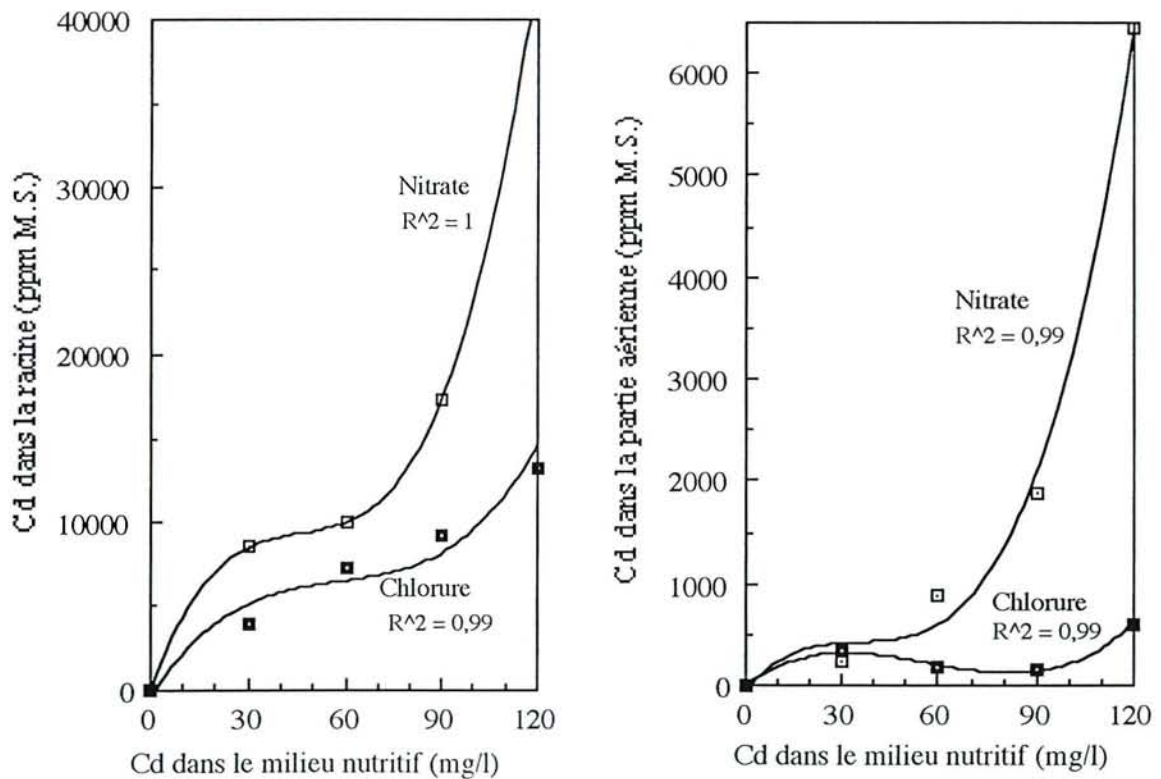


Figure V. 4 : Accumulation de cadmium par la tomate en fonction de la concentration de Cd²⁺ dans le milieu nutritif.

La teneur en cadmium des racines est environ dix fois celle des parties aériennes. Ceci prouve le rôle des racines dans la protection de la plante. Ce résultat est en accord avec ceux des autres chercheurs (Chino et Baba, 1981, Sameni *et al.*, 1987; Cabrer *et al.*, 1988). Pour l'ensemble de biomasse, sa teneur de cadmium dans le milieu de nitrate est supérieure à celle de chlorure. L'augmentation de la concentration de nitrate de cadmium entraîne une élévation importante de la concentration de cadmium assimilé par la plante aussi bien dans la racine que dans la partie aérienne

V. 2. 4. Influence du cadmium sur l'accumulation des métaux par la tomate.

Les résultats des analyses des tomates cultivées dans les milieux nutritifs contenant des concentrations croissantes de nitrate ou de chlorure de cadmium montrent l'influence de cadmium sur l'assimilation des métaux indispensables (K, Ca, Mg, Fe, Zn et Cu.). Cet effet varie en fonction du métal considéré, la dose et la forme chimique du cadmium. La somme de teneur en calcium et potassium diminue en fonction de la dose de cadmium (figure V.5). Il semble que le cadmium remplace ces éléments. A des doses supérieures à 45 mg/ l de cadmium dans la solution nutritive, le rapport de la teneur en Ca + K dans les racines par rapport à celle des parties aériennes diminue (figure V.6.).

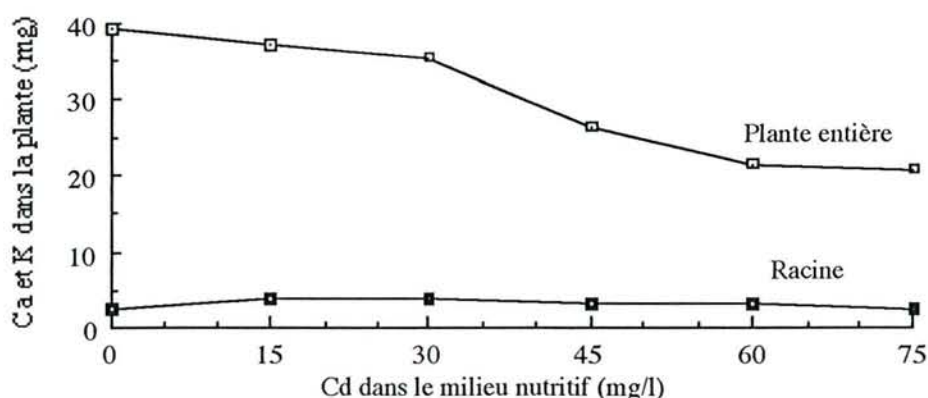


Figure V.5. Accumulation de Ca et de K par tomate en fonction de la dose de Cd.

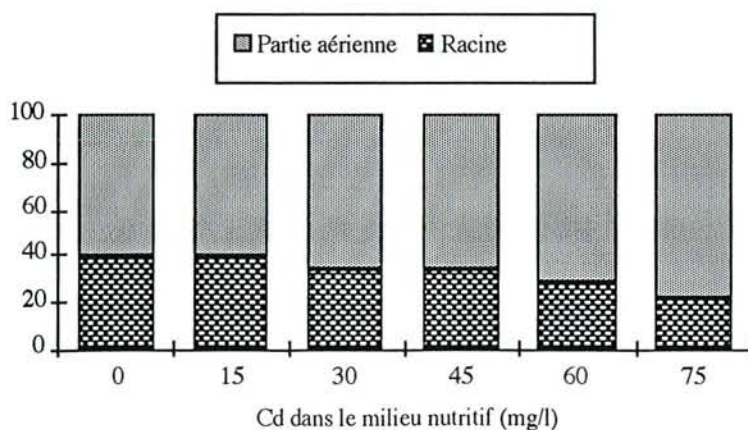


Figure V.6. Distribution de Ca et K dans les parties de tomate en fonction de la dose de Cd.

La figure V. 7 montre que une faible dose de cadmium dans la solution nutritive (≤ 30 mg/l) stimule l'assimilation de certains oligo-éléments (Fe, Zn, Cu et Mg) par les plantes. Cependant, pour des fortes concentrations de cadmium, la teneur de ces éléments diminue aussi bien dans la plante entière que dans la racine. La distribution de ces éléments dans la racine et la partie aérienne, en fonction de la dose de cadmium, est illustrée par la figure V. 8. Il est clair que la répartition des micro - éléments entre la partie aérienne et les racine est modifiée pour des doses de cadmium supérieures à 15 mg/ l.

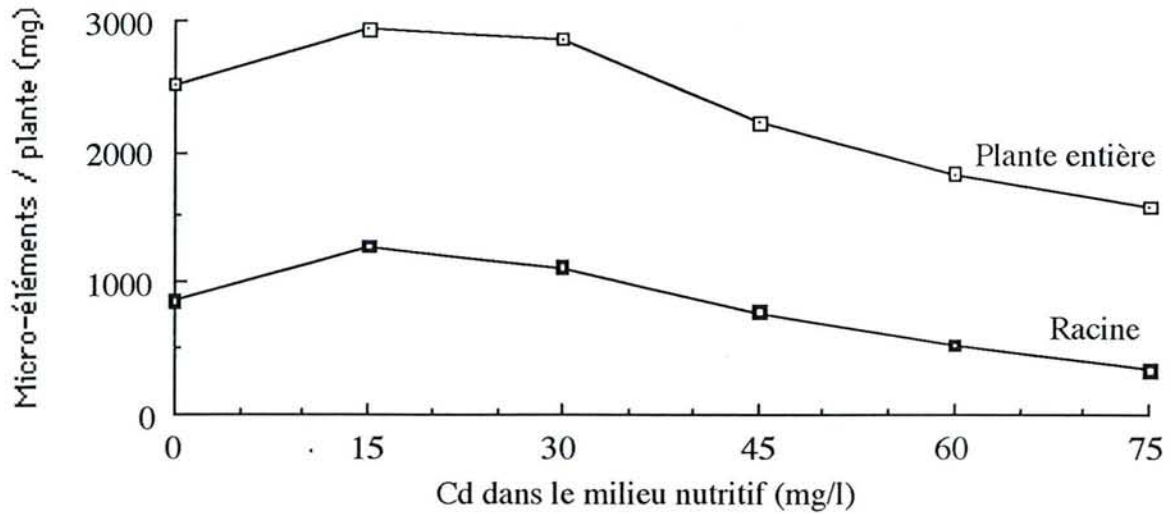


Figure V. 7. Accumulation de certains oligo-éléments par les tomates cultivées dans les milieux additionnés par le nitrate de cadmium

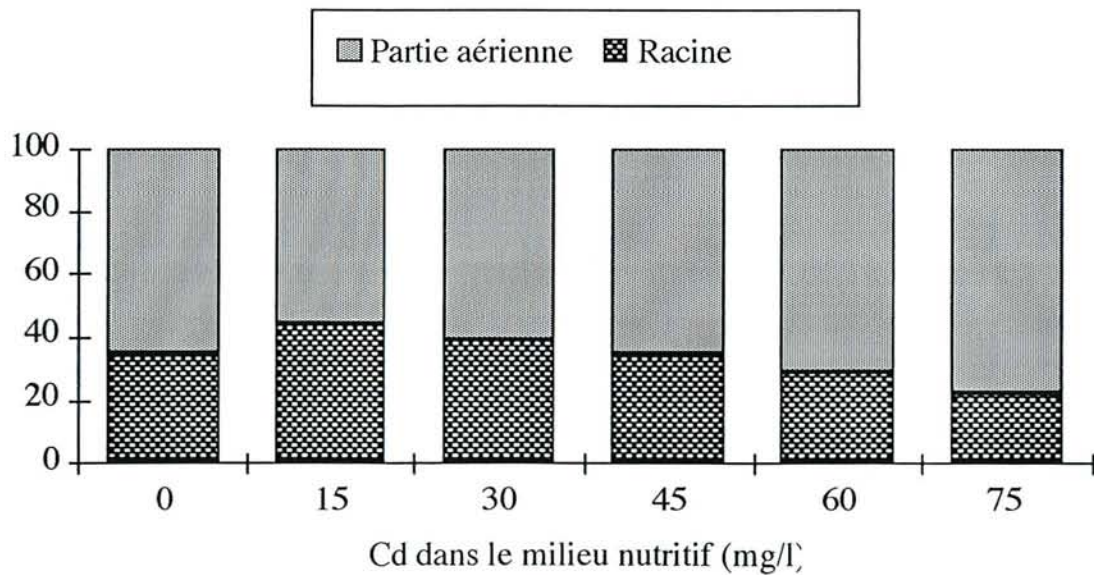


Figure V. 8. Distribution de la somme des teneurs en Fe, Zn, Cu et Mg dans les parties de tomate, en fonction de la dose de Cd.

V. 3. Conclusions

Les résultats obtenus dans cette partie du travail présentent l'effet toxique des doses élevées de cadmium sur la germination et la croissance de plantes. Cet effet varie en fonction de la forme chimique de composé de cadmium.

L'accumulation de cadmium par la plante dépend de sa concentration dans la solution nutritive. L'assimilation de cadmium par les tomates est plus importante dans un milieu de nitrate que dans un milieu de chlorure. Ce résultat est confirmé par les travaux de Wu (1989).

La faible teneur en cadmium dans la partie aérienne, par rapport à celle de la racine, résulte de l'effet de barrage de la racine vis à vis du cadmium. Cette propriété de racine joue un rôle important en matière de protection des chaînes alimentaires (McKenna et al, 1991).

Les courbes de l'action de dose croissante de cadmium sur l'accumulation des métaux testés représentent l'interaction du cadmium sur l'absorption et la migration des métaux dans la plante. Cette influence se présente sous forme soit synergique soit antagoniste et dépend de la nature d'élément considéré, de la dose et de la forme chimique du composé de cadmium.

L'effet inhibiteur du Cd sur l'accumulation de Ca et K confirme les expériences de Gerger et Bertell (1991) sur la betterave à sucre (*Beta vulgaris*). Le cadmium peut agir directement sur l'absorption de ces éléments ou par inhibition de la photosynthèse et la croissance de la racine (Costa *et al.* 1994a).



CHAPITRE VI

BIO- ACCUMULATION DES METAUX LOURDS PAR LES PLANTES SPONTANÉES

La modification de la flore des sites contaminés par des métaux lourds (les surfaces des mines) ou des sites pollués (les boues industrielles) est un des exemples le plus connu de la puissance de la nature à s'adapter aux différentes modifications à l'environnement. La présence de certaines plantes métallo-tolérantes est acceptée comme moyen de la recherche minière. Plusieurs auteurs ont montré que les plantes originaires des sols riches en métaux toxiques sont plus tolérantes aux éléments considérés que les plantes témoins (McNeilly et Bradshaw 1968, Walley *et al.* 1974).

Il est apparu intéressant d'évaluer la flore d'une zone polluée et de vérifier la concentration des métaux dans les plantes spontanées. Les espèces métal - tolérantes peuvent être aussi accumulateurs des métaux lourds. Certaines de ces espèces peuvent être employées pour :

- recouvrir le sol,
- empêcher la dispersion éolienne des boues,
- concentrer les métaux toxiques.

VI. 1. Évolution de la végétation sur les boues :

La première observation a été effectuée en mai 1994 pour étudier l'évolution de la végétation, en partant des zones les plus récemment rechargées en boues, jusqu'au dernier bac déjà recouvert d'une végétation arbustive.

Au départ, il semble que la présence de certains métaux lourds, même en quantités importantes, n'empêche pas totalement la présence de plantes spontanées. Cependant, le type des déchets influe beaucoup sur la nature de la végétation. La faible diversité des espèces nous permet de déduire que les plantes tolérantes aux boues considérées ne sont pas nombreuses.

Ainsi dans le bac en voie de remplissage, on peut observer différentes zones :

- une zone marginale située sur la partie la plus haute du bassin. Elle est occupée par de nombreux semis d'érable sycomore (*Acer pseudoplatanus*) jouxtant le bassin. La largeur de la bande colonisée est de l'ordre de 60 à 80 cm. Elle correspond à un sol fortement lessivé par les eaux pluviales et la prise en considération de cette espèce végétale ne présente aucun intérêt dans le cadre d'une dépollution,

- une zone marginale colonisée par une espèce pionnier, une bryophyte appartenant au genre *Bryum* (*Bryum caespitium?*) retrouvée également dans une dépression du bac le plus ancien. Cette frange se situe à un niveau inférieur à la précédente. Cette mousse se retrouve également, en tapis très dense, dans les zones proéminentes et sur des monticules déposés depuis plusieurs mois, voire plusieurs années,
- une zone morcelée, disjointe, avec implantation d'épilobe des marais (*Epilobium palustre*) sur des boues relativement récentes et humides,
- des monticules qu'une végétation récente a commencé à coloniser. Le développement de ces plantes est certainement lié à un lessivage plus ou moins important des produits 'toxiques' par les eaux de pluie.

Les espèces pionniers, à la base des monticules, se présentent sous forme de taches monoespécifiques en formations ouvertes sur un sol nu, ou parfois sur les surfaces colonisées par la bryophyte. Il s'agit d'une matricaire (*Matricaria inodora*), de laitue sauvage (*Lactuca* sp) et de laitérons (*Sonchus* sp).

Plus haut, des plaques de végétation fermées tapissent en partie ces monticules. On y observe des espèces annuelles : paturin (*Poa annua*), séneçon vulgaire (*Senecio vulgaris*), des espèces bisannuelles: picris fausse épervière (*Picris hieracioides*), onagre (*Oenothera biennis*), circe lancéolée (*Cirsium lanceolatum*) et des espèces vivaces : circe des champs (*Cirsium arvense*), laitéron (*Sonchus arvensis*), pissenlit (*Taraxacum dens leonis*) et même un arbuste : saule marsault (*Salix caprea*).

Sur le bac stabilisé, on rencontre une population arbustive constituée de peupliers blancs (*Populus alba*) et de peupliers noirs (*Populus nigra*). Ces deux espèces semblent présenter une bonne vitalité. *Populus nigra* se développe mieux que *Populus alba*.

Sous les peupliers, une strate herbacée et semi - arbustive, pousse grâce à par ses rhizomes et presque essentiellement constituée de verge d'or-solidage du Canada (*Solidago canadensis*). Quelques autres espèces de la haute friche (rumex, cardère, etc.) sont présentes, mais en nombre restreint. Le peuplement de *Solidago* semble être sub-spontané.

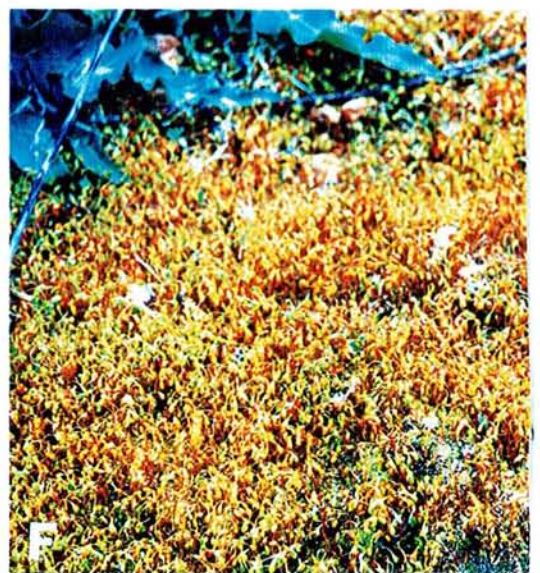
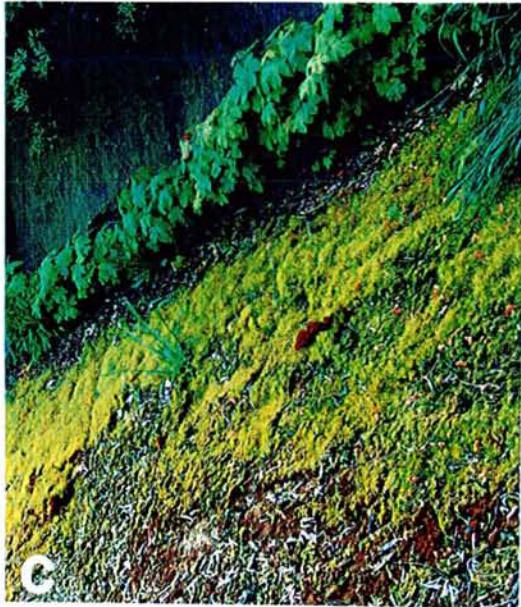
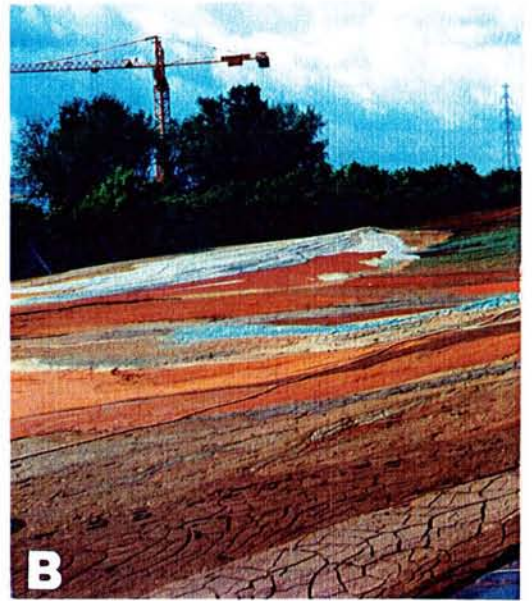
Une dépression située dans un angle du bac et laissant apparaître les boues non recouvertes de terre, permet de constater une certaine zonation (figure VI. 1).

Le roseau (*Phragmites communis*) semble avoir souffert. Il semble que sa croissance est chétive pendant l'année précédente (voir Ph, figure VI).

La mousse (*Bryum - Bryum caespitium?*) prolifère dans la zone où elle n'est pas concurrencée, mais ses rhizoïdes n'explorent qu'une partie très superficielle (soumise au lessivage) du sol (voir Bc, figure VI).

Apparition d'une végétation spontanée sur les boues:

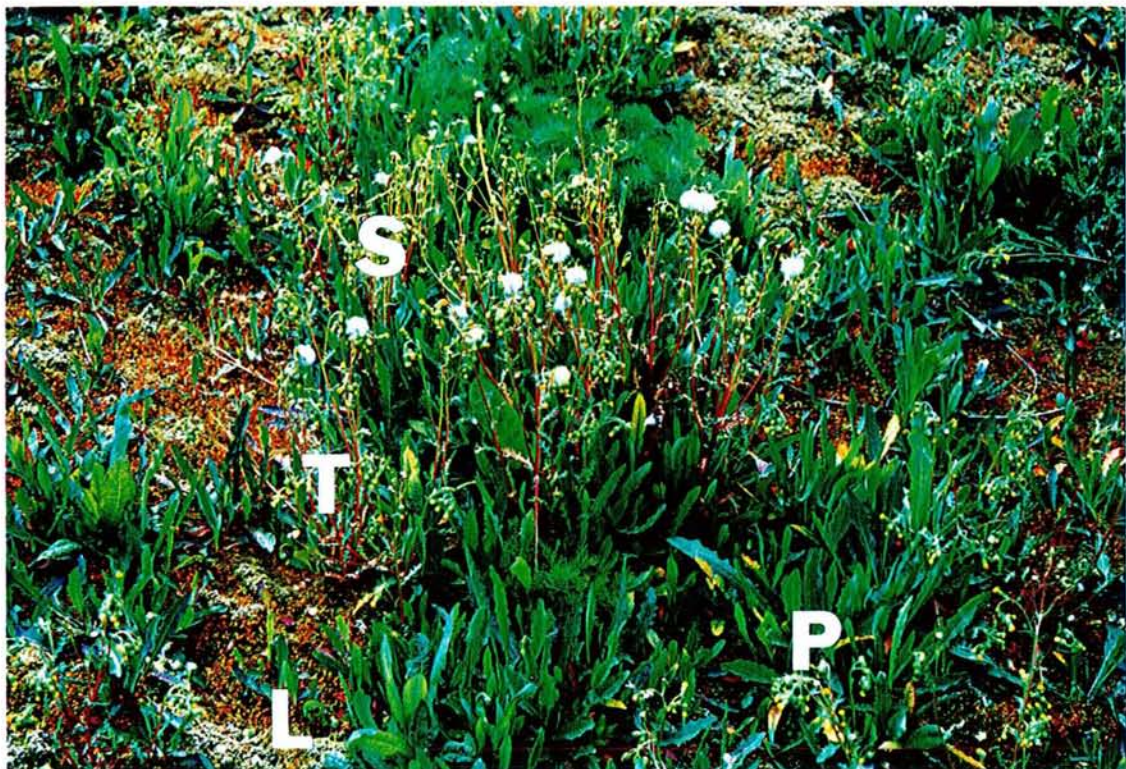
- A: Mise en place des boues, présence d'un film de polyéthylène préservant la nappe phréatique
- B: Absence de végétaux
- C: Ceinture de jeunes sycomores (*Acer pseudoplatanus*)
- D: Apparition d'une végétation spontanée sur les monticules, probablement liée au lessivage des métaux lourds.
- E et F: Colonisation des sols par les Bryophytes (*Bryum caespitium*) et les espèces pionnières



Bryophytes (B) *Taraxacum dens-leonis* coll. (T), *Cirsium lanceolatum* (C),
Matricaria sp (M), *Picris hieracioides* (P)



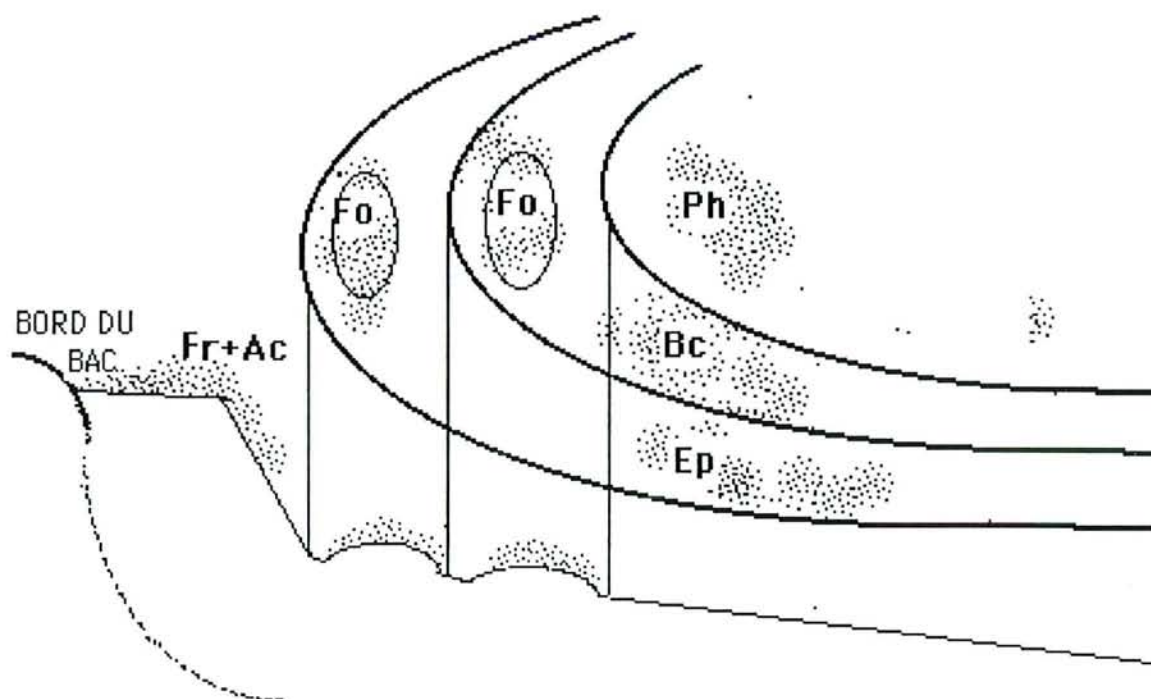
Bryophytes (B) Matricaria.indora (M), Sonchus sp., Lactuca. Sp. (L), Taraxacum dens-leonis coll. (T), Picris hieracioides (P), Senecio vulgaris (S)



La fétuque ovine (*Festuca ovina* coll.) située sur de petites proéminences a un bel aspect. Elle ne paraît pas être incommodée par les boues sous-jacentes, mais la profondeur explorée par les racines n'est pas connue (voir Fo, figure VI).

L'épilobe des marais (*Epilobium palustre*) présente un aspect normal au stade de végétation observé, bien qu'elle pousse directement sur les boues (voir Ep, figure VI).

La fétuque rouge (*Festuca rubra*) et le chiendent (*Agropyron* sp - *A. caninum* ?) font suite à la végétation située à la périphérie du bac. Ces deux graminées présentent l'aspect normal de celles rencontrées dans les prairies non entretenues. Elles sont situées dans une zone lessivée près de bordures (voir Fr et Ac, figure VI).



Fr: *Festuca rubra*
 Fo: *Festuca ovina*
 Ph: *Phragmites communis*

Ac: *Agropyron* sp (*A. caninum* ?)
 Bc: *Bryum* sp. (*B. caespititium* ?)
 Ep: *Epilobium palustre*

Figure VI. 1 : Évolution de la végétation en fonction de la topographie, sur le bac stabilisé.

VI. 2. Évolution saisonnière de la flore :

La deuxième observation a été effectuée le 4 août 1994, soit trois mois après le premier examen pour vérifier le devenir des espèces précédemment recensées et de suivre leur évolution en fonction de leur lieu de croissance.

Cette évaluation nous a permise de placer les plantes ayant poussé sur le bac en cours de remplissage, dans trois catégories suivantes :

- a. Les plantes résistantes :** La mousse (*Bryum*) et les laitues sauvages (*Lactuca*) et la matricaire (*Matricaria inodora*) se sont bien développées. Les laitues sauvages ont fleuri et fructifié. La matricaire située sur les monticules et à la périphérie de ceux-ci, a présenté une croissance exubérante et formée des masses sèches importantes,
- b. Les plantes semi résistantes :** Le laiteron (*Sonchus oleraceus*), le picris (*Picris hieracioides*) et les circes lancéolés (*Cirsium lanceolatum*), développent leur système végétatif, mais ce dernier est de taille médiocre par rapport au témoin. Le picris a peu fleuri puis fructifié cependant sa taille est médiocre. Une partie de la population de l'érable est en bordure. Il est probable que les racines ont atteint des zones plus profondes et plus riches en métaux toxiques.
- c. les plantes sensibles :** les épilobes des marais (*Epilobium palustre*) et les onagres (*Oenothera* sp.) sont desséchées avant la floraison. Quelques rares pieds ramifiés subsistent.
- d. Les plantes nouvelles :** le mélilot blanc (*Melilotus alba*), les peupliers blancs (*Populus alba*), le saule marsault (*Salix caprea*), les roseaux (*Phragmites*) et la carotte sauvage (*Daucus carota*) sont apparus depuis l'observation de mai.

Le mélilot blanc présentant un bel aspect et s'est dispersé partout. Les peupliers poussant seulement sur les buttes et ont des aspects variables. Ils sont parfois très beaux (plus de 30 cm pour 3 mois) et parfois chlorotiques. Les roseaux ont une taille réduite et les carottes sauvage sont présents sur les buttes avec un aspect normal.

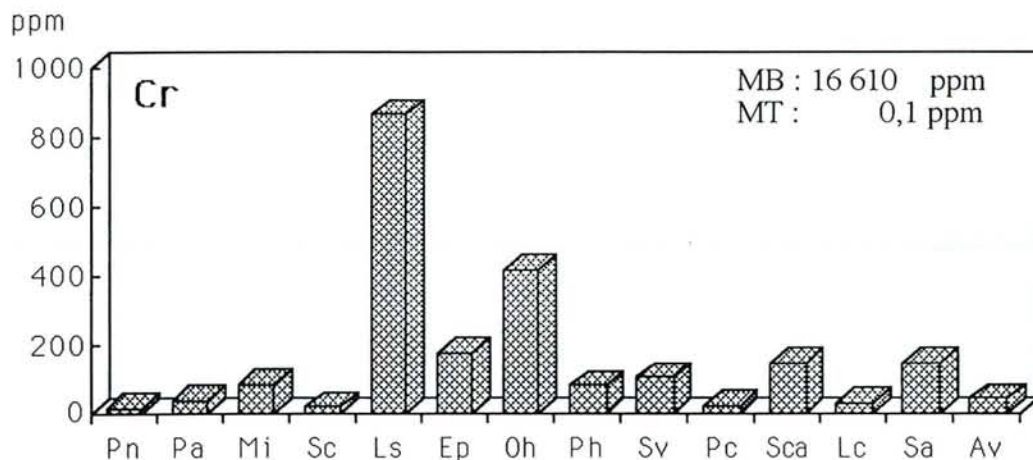
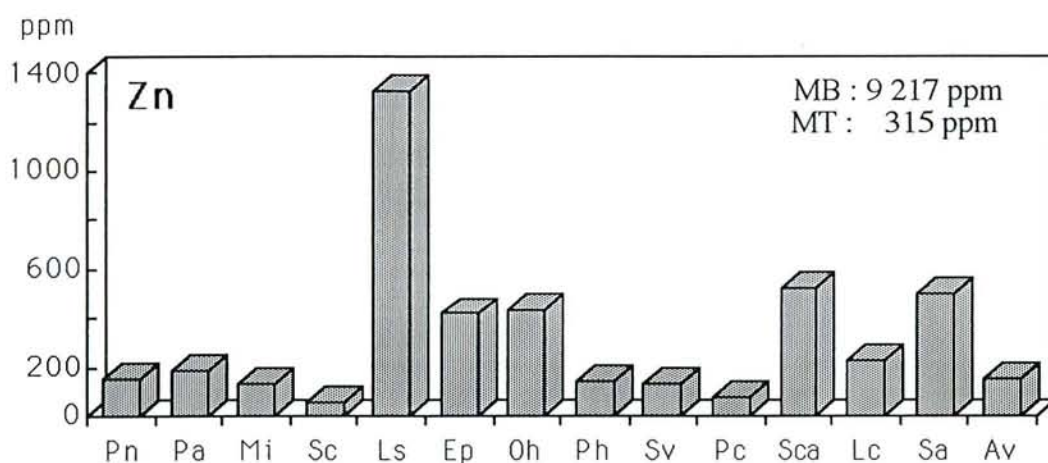
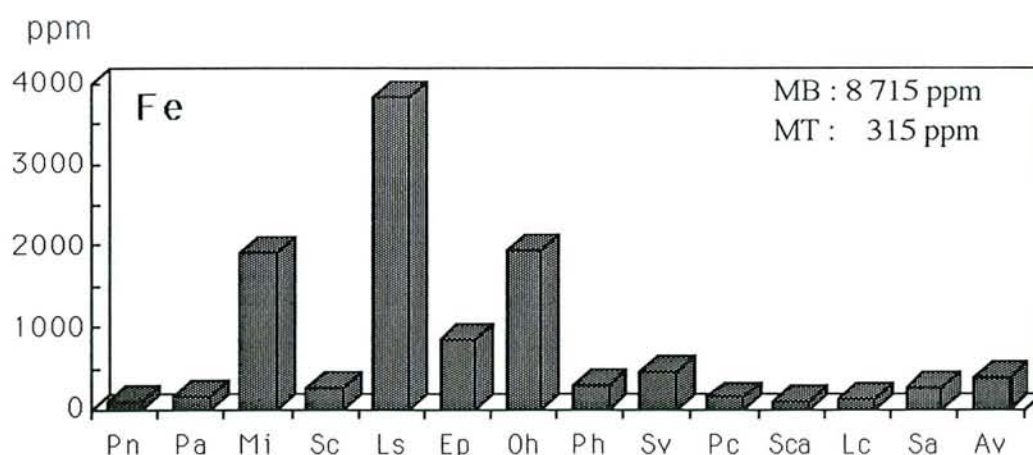
VI. 3. Teneur en métaux lourds des plantes spontanées :

Les résultats obtenus par les analyses des végétaux 'spontanés' croissant sur les bacs, contenant des boues industrielles, sont consignés dans les figures VI. 2a et 2b. On peut observer la capacité remarquable des plantes examinées pour l'accumulation des métaux lourds.

La capacité accumulation des métaux lourds des espèces examinées est présentée dans l'ordre décroissant dans le tableau VI. 2. Il semble que la *Lactuca serriola* suivie par *Oenothera lamarkina* et *Matricaria inodura* présentent des capacités notables d'accumulation des métaux lourds.

Le facteur α défini la teneur de métaux lourds d'une plante contaminée par rapport à celle de plantes témoins. Le tableau VI. 3 groupe ce facteur pour les éléments lourds pour les différentes plantes examinées. Ce facteur varie de 0,12, pour l'accumulation de fer par *Picris hieracioides*, à 377 dans le cas de l'accumulation de cadmium par *Lactuca serriola*. Ceci démontre l'importante capacité d'accumulation des différentes espèces en fonction des éléments considérés.

Malgré la concentration élevée de métaux lourds dans les boues, on a observé que le facteur α de la totalité de métaux lourds pour certaines plantes est inférieure à 1 (tableau VI. 4). En d'autre terme, la somme des teneurs en métaux lourds accumulés par certaines espèces contaminées est moins importante que celle de plantes témoins. En faisant abstraction du fer, on peut voir que le facteur α est systématiquement supérieure à 1 à l'exception de *S. canadensis*. Il semble que l'assimilation des métaux lourds est en compétition avec celle du fer.



MB : Teneur moyenne en métaux des boues

MT : Accumulation des Métaux dans les parties épigées de plante témoin (Tomate)

Pn : *Populus nigra*

Pa : *Populus alba*

Mi : *Matricaria inodora*

Sc : *Solidago canadensis*

Ls : *Lactuca serriola*

Ep : *Epilobium palustre*

Oh : *Oenothera lamarkina*

Ph : *Picris hieracioides*

Sv : *Senecio vulgaris*

Pc : *Phragmites communis*

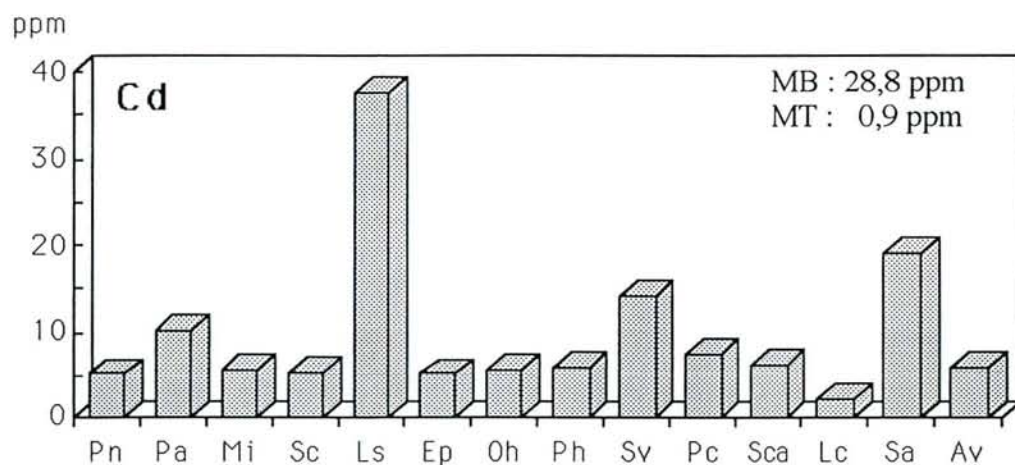
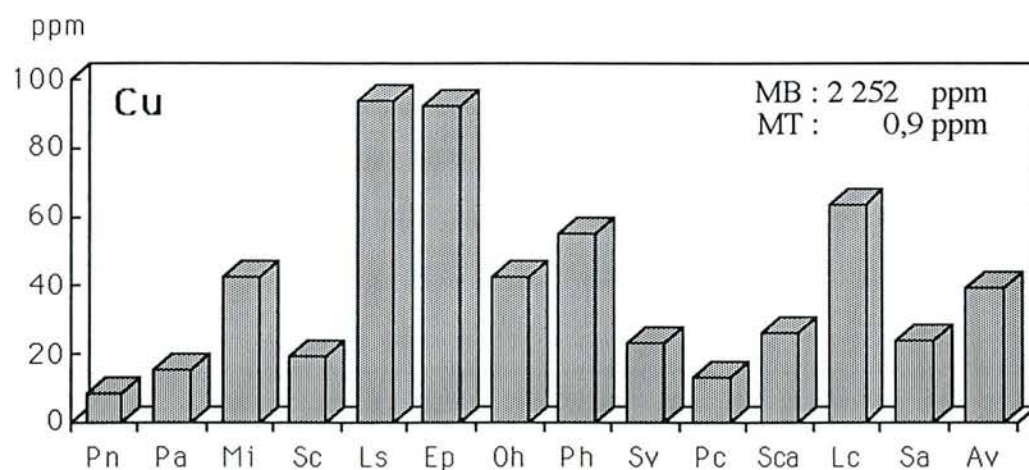
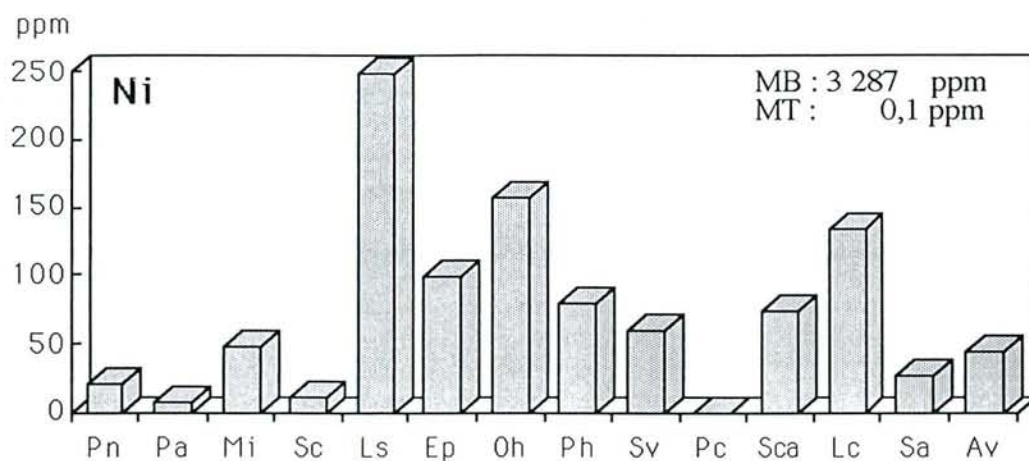
Sca : *Salix caprea*

Lc : *Lythrum salicaria*

Sa : *Sonchus oleraceus*

Av : *Artemisia vulgaris*

Figure VI. 2.a : Accumulation des métaux lourds par les parties épigées des plantes qui poussent sur les boues.



MB : Teneur moyenne en métaux des boues

MT : Accumulation des Métaux dans les parties épigées de plante témoin (Tomate)

Pn : *Populus nigra*

Pa : *Populus alba*

Mi : *Matricaria inodora*

Sc : *Solidago canadensis*

Ls : *Lactuca serriola*

Ep : *Epilobium palustre*

Oh : *Oenothera lamarkina*

Ph : *Picris hieracioides*

Sv : *Senecio vulgaris*

Pc : *Phragmites communis*

Sca : *Salix caprea*

Lc : *Lythrum salicaria*

Sa : *Sonchus oleraceus*

Av : *Artemisia vulgaris*

Figure VI. 2 b : Accumulation des métaux lourds par les parties épigées des plantes qui poussent sur les boues.

Tableau VI. 2 : Ordre d'espèces testées en puissance d'accumulation.

Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Cd
<i>L. serriola</i>	<i>L. serriola</i>	<i>L. serriola</i>	<i>L. serriola</i>	<i>L. serriola</i>	<i>L. serriola</i>
<i>O. lamarkina</i>	<i>S. caprea</i>	<i>E. palustre</i>	<i>O. lamarkina</i>	<i>O. lamarkina</i>	<i>S. oleraceus</i>
<i>M. inodora</i>	<i>S. oleraceus</i>	<i>L. salicaria</i>	<i>L. salicaria</i>	<i>E. palustre</i>	<i>S. vulgaris</i>
<i>E. palustre</i>	<i>O. lamarkina</i>	<i>P. hieracioides</i>	<i>E. palustre</i>	<i>S. caprea</i>	<i>P. alba</i>
<i>S. vulgaris</i>	<i>E. palustre</i>	<i>O. lamarkina</i>	<i>P. hieracioides</i>	<i>S. oleraceus</i>	<i>P. communis</i>
<i>P. hieracioides</i>	<i>L. salicaria</i>	<i>M. inodora</i>	<i>S. caprea</i>	<i>S. vulgaris</i>	<i>S. caprea</i>
<i>S. oleraceus</i>	<i>P. alba</i>	<i>S. caprea</i>	<i>S. vulgaris</i>	<i>M. inodora</i>	<i>P. hieracioides</i>
<i>S. canadensis</i>	<i>P. nigra</i>	<i>S. oleraceus</i>	<i>M. inodora</i>	<i>P. hieracioides</i>	<i>O. lamarkina</i>
<i>P. alba</i>	<i>P. hieracioides</i>	<i>S. vulgaris</i>	<i>S. oleraceus</i>	<i>P. alba</i>	<i>M. inodora</i>
<i>P. communis</i>	<i>S. vulgaris</i>	<i>S. canadensis</i>	<i>P. nigra</i>	<i>L. salicaria</i>	<i>S. canadensis</i>
<i>L. salicaria</i>	<i>M. inodora</i>	<i>P. alba</i>	<i>S. canadensis</i>	<i>P. communis</i>	<i>E. palustre</i>
<i>P. nigra</i>	<i>P. communis</i>	<i>P. communis</i>	<i>P. alba</i>	<i>S. canadensis</i>	<i>P. nigra</i>
<i>S. caprea</i>	<i>S. canadensis</i>	<i>P. nigra</i>	<i>P. communis</i>	<i>P. nigra</i>	<i>L. salicaria</i>

Tableau VI. 3 : Teneur en métaux lourds des plantes qui poussent sur les boues par rapport aux plantes témoin (facteur α).

Plantes	Fe	Zn	Cu	Ni	Cd	Cr
<i>Epilobium palustre</i>	2,52*	4,72	5,97	6,44	2,68	6,46
<i>Lactuca serriola</i>	0,25	8,16	4,50	21,38	377,00	21,22
<i>Lythrum salicaria</i>	0,70	3,75	6,51	1,21	1,99	12,04
<i>Matricaria inodora</i>	0,67	0,95	1,29	1,38	55,00	1,84
<i>Oenothera lamarkina</i>	1,28	8,55	3,19	4,46	3,06	15,00
<i>Phragmites communis</i>	1,04	1,26	1,49	1,00	75,00	0,84
<i>Picris hieracioides</i>	0,12	2,35	2,43	2,35	1,32	3,09
<i>Populus alba</i>	0,58	1,38	0,75	26,67	101,00	1,15
<i>Populus nigra</i>	0,31	1,25	0,46	73,00	0,88	0,63
<i>Salix caprea</i>	0,21	1,19	1,28	2,62	15,75	145,00
<i>Senecio vulgaris</i>	1,00	1,40	1,22	2,22	4,21	2,40
<i>Solidago canadensis</i>	0,21	0,89	0,86	0,51	17,33	0,88
<i>Sonchus oleraceus</i>	0,45	3,09	1,16	2,40	192,00	3,55

* Les chiffres en gras sont les valeurs maximales.

Tableau VI. 4 : Comparaison de la somme des teneurs en métaux des plantes poussant sur un sol contaminé et des plantes témoin.

Plantes	Σ ML			Σ ML - Fe		
	T	C	α	T	C	α
<i>Epilobium palustre</i>	487,1	1645,1	3,38	149,1	794,1	5,33
<i>Lactuca serriola</i>	15779	6410	0,41	235,5	2570	10,91
<i>Lythrum salicaria</i>	358,75	586,69	1,64	186,75	465,69	2,49
<i>Matricaria inodora</i>	3122	2239,2	0,72	249	310,2	1,25
<i>Oenothera lamarkina</i>	1641,3	2999,2	1,83	129,3	1058,2	8,18
<i>Phragmites communis</i>	233,59	261,2	1,12	93,59	116,2	1,24
<i>Picris hieracioides</i>	2648,4	668,4	0,25	148,4	365,4	2,46
<i>Populus alba</i>	492,3	433,5	0,88	189,3	257,5	1,36
<i>Populus nigra</i>	482,5	302,8	0,63	175	206,9	1,18
<i>Salix caprea</i>	916,9	864,4	0,94	492,9	776,2	1,57
<i>Senecio vulgaris</i>	648,6	797,4	1,23	187,6	334,4	1,78
<i>Solidago canadensis</i>	1352	368,2	0,27	132	112,2	0,85
<i>Sonchus oleraceus</i>	813,5	979,2	1,20	235,5	717,2	3,05

T = Teneur en métaux lourds de plantes témoins, C = Teneur en métaux lourds de plantes contaminées, α = C/T

VI. 4. Accumulation des métaux lourds par les plantes bisannuelles :

La teneur en métaux lourds des parties jeunes et âgées de certaines espèces *Solidago canadensis*, *Senecio vulgaris*, *Phragmites communis* et *Artemisia vulgaris* est comparée (figure VI. 3). Ces résultats montrent la variation importante des concentrations en métaux lourds dans les plantes jeunes et âgées. Ces variations dépendent de l'espèce et de l'élément assimilé. Par exemple la teneur en cadmium des plantes jeunes du *Solidago canadensis*, du *Senecio vulgaris*, et du *Phragmites communis* est plus élevée que celles âgées. L'inverse est vrai pour l'*Artemisia vulgaris*.

VI. 5. Accumulation des métaux lourds par les mousses :

La bryophyte (*Bryum caespitium*) pousse en abondance sur les boues. Cette espèce est pionnière dans les zones polluées par les métaux lourds. On la retrouve en tapis très dense sur les zones marginales et les monticules du bac et dans les dépressions.

Malgré sa vaste distribution sur les boues et sa capacité notable d'accumulation des métaux lourds, elle n'est pas intéressante à cause de sa faible taille. Mais elle peut être utilisée pour fixer le sol. Vu la difficulté de récolte des spores et de leur semis, la meilleure solution pour sa culture serait le prélèvement dans les zones où elles prolifèrent et leur implantation dans les zones à coloniser.

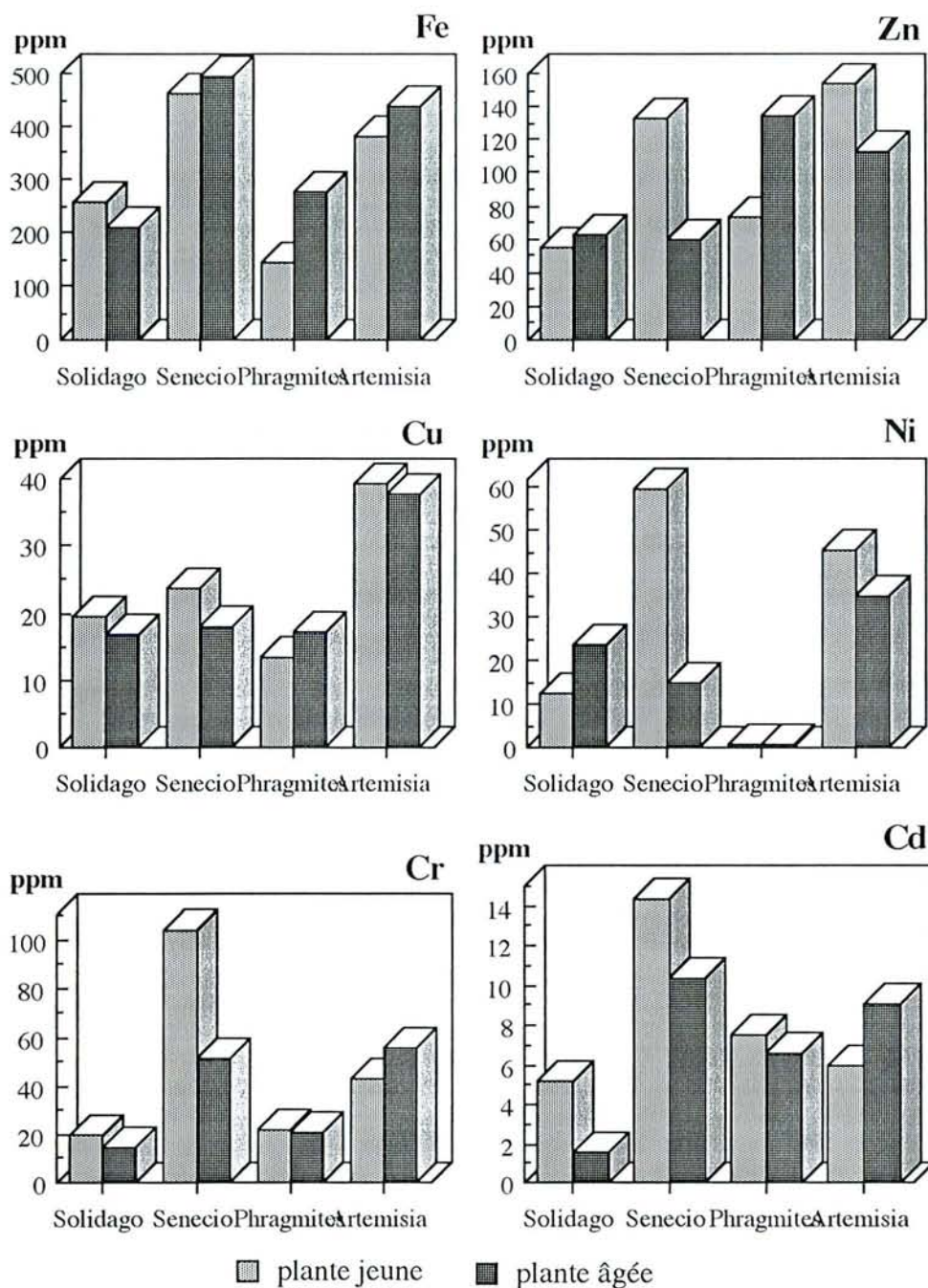


Figure VI. 3 : Teneurs des différents métaux lourds des plantes bisannuelles.

Les métaux lourds absorbés par *Bryum caespitium*, poussant sur les boues, ont été quantifiés et comparés à ceux des plantes témoins (facteur α). Ces valeurs montrent l'importante capacité d'accumulation de ce type de plante vis-à-vis des métaux lourds. Elle peut atteindre 12,2 fois la concentration normale. Le facteur d'absorption de ce type β (rapport de teneur en métaux lourds de plantes/ leur concentration dans la boue) est plus fort que les plantes vasculaires. La teneur en métaux lourds de *Bryum* est de 0,6 fois la concentration de la boue. Le transfert du cadmium du sol par la *Bryum* est assez important (tableau VI. 4). Sa teneur du Cd est environ 4 fois celle du sol.

Tableau VI. 4 : Teneur en métaux lourds de *Bryum caespitium* ayant poussé sur sol contaminé ou témoin (ppm).

	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Cd	Σ ML
Plante contaminée	12 980,0	5 151,0	1 976,0	793,0	3 411,0	108,0	24 419,0
Plante témoin	1 695,0	245,0	54,6	1,9	1,5	2,2	2 000,0
α	7,7	21,0	36,2	417,4	2 274,0	49,1	12,2
β	1,5	0,6	0,9	0,2	0,2	3,8	0,6

VI. 6. Présentation de certaines plantes poussant sur la boue :

VI. 6. 1. Classe: *Dicotyledones*, **Sous classe:** *Gamopetales*, **Famille:** *Compositæ*

VI. 6. 1. 1. Laitue sauvage (*Lactuca serriola*)

Sa taille est d'environ 10 à 40 cm. Elle pousse bien, fleuri (mai à juin) et fructifié sur la boue. Elle se trouve sous forme de taches monospécifiques notamment sur les monticules.

Cette espèce produit moins de biomasse que *Matricaria inodora*, mais en raison de sa capacité notable de rétention de tous les métaux testés, elle est intéressante pour détoxifier les sols contaminés. Le facteur d'assimilation (α) des différents métaux par cette plante est groupé dans le tableau suivant :



α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	α Σ ML
377	21,4	21,2	8,2	4,5	0,2	10,9

VI. 6. 1. 2. Laiteron (*Sonchus oleraceus*.)

Sonchus oleraceus est une Plante annuelle à tige de 30 à 80 cm, dressée, peu rameuse, lisse ou un peu glanduleuse au sommet.

Elle pousse dans toute l'Europe et les deux hémisphères. Elle fleurit entre juin et octobre.

Cette espèce apparaît de façon épisodique sur les boues. Elle est intéressante à cause de sa capacité d'accumulation du cadmium, du chrome et du zinc. Le facteur d'assimilation (α) est le suivant :



α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	α Σ ML
192	2,40	3,55	3,09	1,16	0,45	3,1

VI. 6. 1. 3. Matricaire (*Matricaria inodora* L.)

Plante annuelle glabre, presque inodore, de 20 à 40 cm, dressée ou ascendante et rameuse. Elle pousse dans les champs, les lieux incultes et les terrains siliceux dans toute la France et presque toute l'Europe. Elle fleurit entre mai et septembre. La matricaire est située sur les monticules et à la périphérie du bac. Elle présente une croissance exubérante et forme une biomasse importante.

M. inodora a des racines superficielles. La récolte de l'ensemble de la plante est possible par arrachage mécanique. Elle est intéressante pour l'accumulation de certains métaux lourds.



α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	$\alpha \Sigma$ ML
55	1,4	1,8	1	1,3	0,7	1,9

VI. 6. 1. 4. Picris fausse épervière (*Picris hieracioides*)

Plante bisannuelle entièrement hispide, rude, tige de 30 à 80 cm dressée à rameaux étalés ou sinués.

Elle pousse dans les champs, vignes, lieux pierreux des terrains calcaires ou argileux en Europe centrale & méridionale et dans toute la France, l'Iran, la Sibérie et le Japon. Elle fleurit entre Juillet et septembre.

Picris fausse épervière est une espèce semi - résistante qui pousse plus ou moins bien sur les boues. La reprise de sa croissance constituerait aussi un indice d'élimination des métaux. Le facteur d'assimilation (α) est le suivant:



α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	$\alpha \Sigma$ ML
1,3	2,3	3,1	2,3	2,4	0,1	2,5

VI. 6. 1 5. Séneçon vulgaire (*Senecio vulgaris*)

Plante annuelle de 20 à 40 cm à tige dressée, rameuse qui pousse partout, dans presque toutes les régions tempérées du globe. Elle fleurit presque toute l'année.

Cette espèce est frêle, son cycle biologique ne dépasse pas 2 mois. Sa récolte étant difficile, elle ne présente aucun intérêt dans le cas de détoxification de sol. Cependant elle peut être utilisée comme espèce fixatrice du sol.

Le facteur d'assimilation (α) est le suivant :



α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	$\alpha \Sigma$ ML
192	2,4	3,5	3,1	1,2	0,4	3

VI. 6. 2. CLASSE : *Dicotyledones*, Sous classe : *Apetales*, Famille : *Salicaceae*

VI. 6. 2. 1. Saule Marsault (*Salix caprea*)

S. caprea est une plante arbrisseau ou arbuste de 3 à 10 mètres à rameaux étalés dressés, arrondis, bois nu très lisse. Elle pousse dans les lieux frais ou humides, en Europe, surtout centrale, en Asie centrale et boréale, presque toute la France sauf la plaine méditerranéenne. Elle fleurit entre mars et avril.

Les jeunes plants de *S. caprea* poussent dans les boues seulement sur les buttes. Certains plants montrent des aspects beaux avec des tailles d'environ 30 cm (pour 3 mois). Elle est intéressante pour la bioaccumulation de chrome et de cadmium contenus dans les sols contaminés.



α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	$\alpha \Sigma$ ML
15,8	2,6	145,1	1,2	1,3	0,2	1,6

VI. 6. 2. 2. Peuplier blanc (*Populus alba* L.)

P. alba est un arbre élevé à écorce lisse et a des rameaux étalés. Elle pousse dans les rivières et les lieux humides, en Europe centrale et méridionale, en Asie occidentale et centrale, en Afrique septentrionale et presque toute la France. Elle fleurit entre Mars et avril

Une population de Peuplier blanc déjà implantée en compagnie de *Populus nigra* dans le bac stabilisé présente une bonne vitalité. Certains pieds ont poussés aussi sur les boues.

Par rapport aux autres plantes, métal - tolérantes, la capacité d'accumulation des métaux

lourds de *P. alba* en n'est pas très intéressante. Cet arbre peut être utilisé pour fixer le sol et retenir les métaux des zones profondes.



α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	α Σ ML
101	2,7	1,1	1,4	0,7	0,6	2,3

VI. 6. 2. 3. Peuplier noir (*Populus nigra* L.)

P. nigra est un arbre élevé, à rameaux étalés et arrondis qui pousse dans les rivières et lieux humides dans toute la France et la Corse, l'Europe centrale et méridionale, l'Asie tempérée et l'Afrique septentrionale. Elle fleurit de mars à avril.

Le peuplier noir cultivé dans le bac stabilisé présente une croissance plus vigoureuse que *P. alba*. Mais l'accumulation des métaux lourds par *P. nigra* est plus faible que par *P. alba*. Seulement dans le cas du nickel et du zinc la teneur en métaux des plantes contaminées est supérieure à celles des plantes témoins. La vitalité de cet arbre peut être mise à profit pour stimuler le développement des autres plantes.

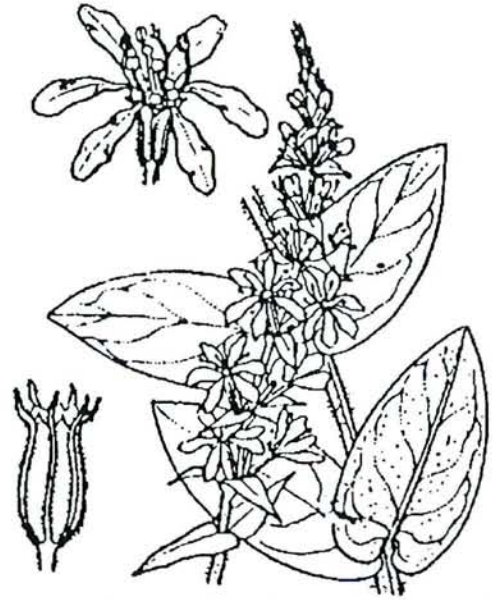


α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	α Σ ML
0,9	73,1	0,6	1,2	0,5	0,3	1,2

VI. 6. 2, 4. Salicaire (*Lythrum salicaria*)

Plante vivace de 50 à 100 cm, dressée, robuste et pubescente dans le haut. Elle pousse au bord de l'eau, dans les lieux humides, dans toute l'Europe, l'Asie occidentale et boréale, l'Afrique, l'Amérique septentrionale, l'Australie et dans toute la France. Elle fleurit entre Juin et septembre;

L. salicaria est une espèce résistante qui pousse plus ou moins bien sur les boues Elle est intéressante pour la décontamination des boues contenant du cuivre et du nickel.



α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	$\alpha \Sigma$ ML
2	1,2	12	3,7	6,5	0,7	2,5

VI. 6. 3. Classe : *Dicotyledones* . Sous classe : *Dialypetales* . Famille : *Onagraceæ*

VI. 6. 3. 1. Épilobes des marais (*Epilobium palustre*)

Plante de 20 à 80 cm, dressée ou ascendante, glabrescente, à souche traçante, émettant des stolons souterrains, filiformes, blanchâtres et a une tige arrondie. Elle pousse dans les lieux humides, presque partout en Europe, en Asie et en Amérique septentrionale. On la retrouve presque dans toute la France sauf en Corse et en région méditerranéenne. La floraison se fait de Juillet à septembre. Elle présente un aspect normal au stade de végétation observé. Elle pousse directement sur la boue relativement récentes et humides. Les racines de cette plante vivace sont aptes à fixer le sol. Sa partie aérienne est importante et peut être fauchée.



Au cours de la première observation elle paraît être parmi les espèces isolées et la moins sensible aux métaux lourds. Cependant, elle est desséchée avant sa floraison. Elle accumule certains métaux lourds comme Fe, Cu, Cr, Ni :

α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	$\alpha \Sigma$ ML
2,7	6,4	6,5	4,8	6,0	2,5	3,38

VI. 6. 3. 2. Onagre (*Oenothera lamarkina*)

Plante bisannuelle de 40 à 80 cm dressée assez robuste, elle pousse dans les lieux sablonneux, aux bords des rivières et fleurit de juin à août.

Elle pousse dans les zones de végétation tapissant en partie les monticules du bac. Néanmoins, elle est desséchée avant sa floraison.

Cette espèce peut être intéressante dans le domaine de détoxification des sols, à cause de sa partie aérienne importante et fauchable ainsi que sa capacité de rétention de certains métaux lourds comme le montre le tableau suivant.



α Cd	α Ni	α Cr	α Zn	α Cu	α Fe	$\alpha \Sigma$ ML
3,1	4,5	15	8,5	3,2	1,3	8,2

VI. 7. Conclusions

Les relevés florestiques réalisés ont permis de mettre en évidence l'établissement d'une végétation spontanée sur les bassins de stockage de boues industrielles.

Un certain nombre d'indices permettent cependant de penser que la diminution de la teneur des métaux toxiques, par la pluie, favorise la croissance de certaines espèces végétales. En effet les zones les plus favorables sont les bordures exposées aux ruissellements, ainsi que les petits monticules, autorisant une lixiviation partielle des métaux lourds.

Les observations successives des plantes spontanées montrent que leurs évolutions sont variables ainsi :

- la croissance de certaines plantes est perturbée voire arrêtée,
- la floraison n'est pas toujours suivie par la production de fruits,
- une minorité ne semble pas être incommodée. Elle concentre les métaux toxiques en général et un ou plusieurs éléments de façon spécifique.

Les résultats suggèrent que pour obtenir un effet global sur les boues, il faille sélectionner une association particulière de plantes spécifiques à ce nouveau biotope. Il semble que la *Lactuca serriola*, l'*Oenothera lamarkina*, la *Matricaria inodora*, l'*Epilobium palustre* et le *Picris hieracioides* sont les plus aptes à concentrer les métaux lourds en général de point de vue quantitative.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Sciences resourçantes

Les dépollutions industrielles de sols, de boues industrielles ou de stations d'épuration nécessitent des techniques rapides, susceptibles de permettre un fonctionnement en continu des installations. Elles conduisent actuellement à deux types de traitements :

- A. Le stockage des déchets dans des décharges contrôlées, mais dont la taille et le nombre sont de plus en plus contestés par les "écologistes". D'autre part, en 1991, le ministre de l'environnement d'alors a décrété la disparition à l'horizon 2002 de tous les dépôts d'ordures à ciel ouvert avec interdiction implicite d'en ouvrir d'ici là. Ce type de traitement concerne surtout les déchets ménagers,
- B. Le stockage de résidus résultant du traitement de déchets industriels, qui ont pour effet de concentrer au maximum les éléments indésirables mais qui n'empêchent pas l'ouverture de bassins contenant des résidus d'autant plus nocifs qu'ils sont plus concentrés.

Les techniques de dépollution ne dépassent guère ce stade lorsque l'on s'adresse à des déchets industriels ou ménagers.

Une première amélioration, déjà utilisée conduit à développer une couverture végétale qui a pour effet de supprimer une nuisance visuelle et à empêcher la propagation éolienne de ces produits. Il n'en reste pas moins que les sols ainsi constitués sont impropres à différents types de culture ainsi qu'à l'élevage. Dans certains cas, la concentration de métaux par les plantes peut augmenter au cours du transfert dans les chaînes alimentaires et rendre finalement ces éléments dangereux pour l'espèce humaine.

L'utilisation des composts d'ordure ménagère ou de stations d'épuration s'ils diluent la pollution au cours des premières utilisations, contribue progressivement à concentrer des métaux lourds dans les sols. En effet, ces derniers ne sont pas utilisés de manière massive par les micro-organismes telluriques.

Ces derniers pourront s'adapter à très longue échéance, mais d'ici là il faut trouver des solutions intermédiaires la plus simple étant :

- une incorporation dans les tissus donc une concentration des produits indésirables, dans les cellules vivantes de végétaux ou des micro-organismes. L'incinération des

plantes et des champignons permettra une nouvelle réduction du volume des déchets et par conséquent d'allonger la durée d'utilisation des bassins. Ceci permet de réduire le nombre des bassins. On peut même envisager un recyclage direct de certains éléments, si ils sont concentrés dans les cendres,

- pour cela il faut sélectionner des micro-organismes tolérant des concentrations élevées de polluants.

Les observations florestiques de certains bassins industriels, ont montré l'apparition spontanée de végétaux sur les boues. Certaines espèces, peu adaptées, dépérissent avant de fleurir (Epilobe des marais). D'autres se développent, mais l'appareil végétatif est rabougri et peu fourni en fleurs et en fruits (laiteron, picris, circe lancéolée). Enfin, des autres plantes se développent de façon presque normale comme la mousse ou les laitues sauvages.

A ce dernier stade, le végétal devient intéressant dans la mesure où les plantes concentrent de façon importante les métaux indésirables.

On constate que ces végétaux marquent une 'certaine préférence' pour accumuler un élément spécifique : *Lactuca serriola* pour le cadmium, *Populus nigra* pour le nickel, *Salix caprea* pour le chrome, pour ne citer que ceux-ci.

Les métaux sont inégalement concentrés dans les différentes parties de la plante: généralement dans l'ordre décroissant : racine - partie aérienne - fruit. Il existe des barrières qui empêchent la migration uniforme des ions métalliques. Les racines en constituent le premier et le plus efficace. Tout se passe comme si la plante favorise sa descendance, en protégeant les fruits.

Les résultats obtenus entraînent certaines observations :

- l'accumulation dans les racines limite l'efficacité du traitement, en augmentant les difficultés de récupération du matériel végétal contaminé,
- une culture maraîchère n'est pas à exclure dans certains cas, par exemple la tomate. En effet, il semble que le fruit est peu touché.

Enfin, si ces résultats sont applicables dans le cas d'un seul métal il n'en est pas de même en cas de mélange. Dans le chapitre V il a été démontré qu'en présence de plusieurs métaux, l'inactivation qualitative et quantitative dans les tissus était perturbée par effet d'addition ou de substitution.

C'est l'une des voies de recherche qui s'est ouverte pour nous au cours de ce travail de thèse avec l'utilisation des champignons (l'accumulation importante mais biomasse faible) et que nous tenterons de poursuivre une fois retourné dans notre pays.

REFERENCES

Adriano, D.C. 1986

Trace elements in terrestrial environment. Springer-Verlag, Inc, New York., 533p.

Agricola, G. 1556.

De re metallica. In: Hoover & Hoover (eds) Min Mag, London . Engl transl 1912.(
Voir: Woolhouse, 1983 P 245-300)

Allen, W.R. and Sheppard, P.M. 1971

Copper tolerance in some californian populations of the money flower *Mimulus gutatus*.
Proc Roy Soc London Ser. B 177:177-196.

Andreux, F. 1978

Etude des étapes initiales de la stabilisation physiochimique et biologique d'acides
humiques modèles. Thèse d'Etat Univ. Nancy I; 174p.

Anon, 1964

Encyclopaedia of chemical science, Princeton, Van Nostrand.p. 533.

Babich, H. & Stotzky, G. 1977

Sensitivity of various bacteria, including actinomycetes, and fungi to cadmium and
influence of pH on sensitivity. Appl. Environ. Microbiol. 23:681-685.

Baker, A.J.M. 1981

In: J. Plant Nutr. 3: 643-654

Barcelo J. Cabot, C. and Poschenrieder, Ch. , 1986

Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus
vulgaris* L. cv *Contender*). II. Effects of Cd on endogenous abscisic acid levels.J. Plant
Physiol. 125: 27-34.

Bazafkan, M.H. 1989

Métaux lourds dans l'eau urbaine de "Mashhad"
MSPH 175p. Faculté de santé Université de Téhéran.

Bazargan, N. 1989

Utilisation of sewage sludge of "Firouzabad" for irrigation
MSPH 233p. Faculty of Health. University of Tehran. Iran.

Behel, D.; Darrel, J.R.; Nelson, W.; Sommers, L.E. 1983

Assessment of heavy metal equilibria in sewage sludge-treated soil. J. Environ. qual.
12: 181-186.

Benes, P. et Steines 1975

Migration forms of trace elements in natural fresh waters and the effect of the water
storage. Water research, 9:741-749.

Berail, G. 1991

Bioconcentration du cuivre et du cadmium chez l'aiginoïphyte *Cystoserira barbata forma repens* - Effets biologiques et biochimiques. Thèse Doc. Univ. de Provence (Aix-Marseille I) pp.155.

Berrow, M.L. and Burrige, J.C. 1991

Uptake, distribution, and effects of metal compounds on plants. In: Metals and Their Compounds in the Environment. VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge 399-410.

Bertrand, D. 1972.

Intéractions entre éléments minéraux et microorganismes du sol. Rev. Ecol. Biol. Sol. 9: 349-396.

Betty, H.; Olson, I. Ashok, K.; Panigrahi, B. 1991

Bacteria, Fungi, and Blue-Green Algae. In: Metals and Their Compounds in the Environment. VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge 419-448.

Beyersmann, D 1991

The Significance of Interactions in Metal Essentiality and Toxicity. In: Metals and Their Compounds in the Environment. VCH Weinheim . New York . Basel . Cambridge 1991 491-509.

Bigham, F.T.; Sposito, G. et Strong. J.E. 1984

The effect of chloride on the availability of cadmium. J. Environ. Qual.,13:1-4.

Bingham, F.T.; Page, A.L.; Malheret, R.J.; Ganje, T.J. 1976

Cadmium availability to rice in sludge-amended soil under "flood" and "nonflood" culture. Soil Sci. Soc. Amer. J., 40:207-211.

Blacke, G. et Dubois, J.P. 1982

L'épuration des eaux par les plantes aquatiques. Association française pour l'étude des eaux. Paris.

Bogges, S.F. Willavize, S. et Koeppe, D.E. 1978

Differential response of soybean varieties to soil cadmium. Agron. J., 70:756-760.

Boudene, C. 1993

Ces métaux lourds en question. In: Pollution atmosphérique Vol.35, 139: 56-62.

Broda, E. 1972

The uptake of heavy cationic trace elements by microorganisms
Ann.Micr. 22: 93-108.

Bröker, W. 1963

Genetisch-physiologische Untersuchungen über die Zinkverträglichkeit von *Silen inflata*
Sm Flora (Jena) 153:122.

Burrel D.C. 1974

Atomic spectrometric analysis of heavy metals pollutant in waters.
Ann. Arbor Science Publisher, 1974, p. 19-45.

Burton, K.W.; Morgan, E. et Roig, A. 1985

Intracative effects of Cd, Cu, Ni on the growth of sitka spruce and studies of metal uptake frome nutrient solution. *New physiologist*, 103:549-557.

Cabrer, D.;Young, S.D. and Rowell, D.L. 1988

The toxicity of cadmium to barley plants as affected by complex formation with humic acid. *Plant and Soil*, 105: 195-204.

Callot, G.; Chamayou, H.; Maertens, C. et Salsac, L. 1982

Les interactions sol-racine, incidence sur la nutrition minérale. INRA, 325p.

Cannon, H. 1960 In:; L. Schultz and Thomas, C. Hutchinsn. 1991

Metal tolerance in higher plants. In: *Metals and Their Compounds in the Environment*. VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge.411-417.

Caroline, L. Schultz and Thomas, C. Hutchinsn. 1991

Metal tolerance in higher plants. In: *Metals and Their Compounds in the Environment*. VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge.411-419.

CAST (Concil for Agric. Sci. and Technol.) 1980

In: *Effects of sewage sludge on cadmium and zinc content of crops*. CAST Rep. N° 83,Ames, Iowa, 77 pp.

Cataldo, D.A.; Garand, T.R. et Wildung, R.E. 1981

Cadmium distribution and chemical fate in soybean plants. *Plant Physiol.*, 68: 835-839.

Chaney, R.L. et Hornick, S.B. 1977

Accumulation and affects of cadmium on corps. In: *porc. 2nd National conf. Municipal Sludge Management*, Information Transfer Inc., Rockville, pp.169-178.

Chang, A.C.; Page, A.L.; Foster, K.W. et Jones T.E. 1982

A comparison of cadmium and zinc accumulation by cultivars of barley grown in sludge amended soil. *J. Environ. Qual.* , 11:409-412.

Chappuis, P. 1991

Les oligoéléments en médecine et biologie. Lavoisier Tec & Doc Paris.

Chariati, M. Sabaghfarshi, R. and Garakaninejade, A. 1989

Heavy metals in irrigated soils (south of Tehran) In: *Technical and Research Journal*. Soil and Water Agency 5: 261-287 Tehran Iran.

Chariati. M. 1971

Trace metals in water and human health. Faculty of Health. University of Tehran. Iran.

Chino, M. et Baba, A. 1981

The effect of some environmental factors on the partitioning of zinc and cadmium between roots and tops of rice plants. *J. Plants Nutr.*, 3:203-314.

Coïc, Y. et Coppenet, M. 1989

Les oligo-éléments en agriculture et élevage - INRA, Paris.

Costa, G.; Michaut, J.C.; Morel, J.L. 1994a

Influence of cadmium on water relations and gas exchanges, in phosphorus deficient *Lupinus albus*. *Plant Physiology and biochemistry*. Vol. 32, N° 1, pp. 105-114.

Costa, G.; Morel, J.L. 1994b

Efficiency of H⁺ ATPase activity on cadmium uptake by cultivars of lettuce. *J. Plant Nutr.* Vol. 17, N° 4, pp627-637.

Cox, R.M. Hutchinson T.C. 1980

Multiple metal tolerance in the grass *Descampsia caespitosa* (L) Beauv. from the Sudbury smelting area. *New Phytol.* 84(4): 631-674.

Craig, G.C. 1976

In: International conference on heavy metals in the environment, Vol. 2, part 1, pp. 169-186. University Toronto.

Dave, S.R. and Natarajan, K.A. 1980

Leaching of copper and zinc from oxidised ores by fungi. *Hydrometallurgy*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam. 7: 235-242.

Djama, R. 1991

La chimie du chrome et ses effets biologiques et pathologiques dans les métabolismes. Thèse Doc. Pharmacie Univ. Nancy I.

Douglas, H. and Lee, K. 1972

Metallic contaminants and human health. Academic press New York and London.

Drapeau, A.J., Laurence, R.J., Harbec, P.S., Saint-Germain, G. et Lambert, N.G. 1983

Bio-accumulation de métaux lourds chez certains micro-organismes. In: *Sciences et Techniques de l'Eau*, 16: 359-361.

Drapeau, A.J.; Laurence, P.S.; Saint-Germain, G.; Lambert, N.G. 1984

Bio-accumulation de métaux lourds chez certains microorganismes. *Sc & tech de l'eau*, vol 16, n°4, pp 973-981, August.

Dreyer, K., Ferry, G. Garitte, L. Palfner, V. 1994

"Le nickel & le Cadmium"

Aménagement - Environnement Université de Metz.

Drobot, w. 1981

Microbiological Recovery of metals.

UK PATENT APPLICATION GB 2068927 A, Rapport de 7 pages.

Dueck,Th.A.,Visser, P., Ernest,W.H.O. et Schat, T.H. 1986

Vesicular arbuscular mycorrhizae decrease Zinc-toxicity to grasses growing in zinc soil.
Biol.Biochem. 18,331-337.

Duvigneaud, P. Denaeyer de Smet, S. 1963

Cuivre et végétation au Katanga. Bull Soc. R. Bot. Belg 96:93-231.

Eichhorn, G.L.; Clark, P.; Shin, Y.A.; Butzow, J.J.; Rifkin, J.M., Pillai, R.P.; and Waysort, D. 1986.

The influence of metal ion nucleic acid interaction on genetic information transfer.
in: Xavier, A.V. Frontiers in bioorganic chemistry pp. 80-83.

El-chahatha, H.1991

Etude de quelques aspects écologiques des relations nutritionnelles entre graminées et légumineuses en présence d'un champignon endomycorhizien en cultures pure et mixte
Thèse Doc. Sciences Univ. Nancy 1.

Ernst, W.H.O. 1975

In: Hutchinson, T.C. (ed), International Conference on Heavy metals in the Environment. Vol. 2, Part 1, pp. 121-136. University Toronto.

Eshghi, B., Chennouf, S., Kilbertus, G. 1994

Bio-dépollution par des champignons de boues industrielles contenant des métaux lourds. In: Environmental microbiology Proceedings of the eighth symposium. October 8-10, 1993 Nyiregyhaza, Hungary.

Fastner, U., Miller, G. 1974

Schwer Metalle in Flüssen und seen Springer-verlage
Berlin Heidelberg New York.

Favier, A. 1990

Le métabolisme du cuivre, voir Chappuis 1991.

Fourest, E. 1993

Etude des mécanismes de biosorption des métaux lourds par des biomasses fongiques industrielles en vue d'un procédé d'épuration des effluents aqueux contaminés.
Thèse Doc. Univ. Joseph Fourier - Grenoble1.

Francis, C.W. et Ruch, S.G. 1974

Factors affecting uptake and distribution of cadmium in plants.

In: Trace Substances in Environmental Health-VIII (D.D. Hemphill ed.), Columbia, University of Missouri, pp.75-81.

Gadd, G.M. 1988

Accumulation of metals by microorganismes and algae.

In: Biotechnology Rehm H.J. & Reed G. Eds. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.

Galun, M. Keller, P. Feldstein, H. Galun, E. Siegel, S. Siegel, B. 1983

Recovery of uranium (VI) from solution using fungi II. Realise from uranium-loaded Penicilium biomass.

Water Air and Soil Pollution 20:277-285.

Galun, M.; Keller, P.; Malki, D.; Feldstein, H. Galun, E. Seigel, S.M.; Seigel, B.Z. 1982

Removal of uranium (VI) from solution by fungal biomass and fungal wall related biopolymers. Science, 2: 285-286.

Gartside, D.W. and McNeilly, T. 1974

The potential for evolution of heavy metal tolerance in plants. II. Copper tolerance in normal populations of different plant species. Heredity 32:335-348.

Gaughofer, J. and Bianchi, V. 1991

"Chromium" In: Metals and Their Compounds in the Environment.

VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge 853-878.

Gerger, M.; Bertell, G. 1992

Effect of Ca^{2+} and Cd^{2+} on the carbohydrate metabolism in sugar beet (*Beta vulgaris*) J. Experimental Botany 43: 167-173.

Giddings, J. C. 1973

Chemistry, Man and Environmental Change, An Inegrated Approach Canfield Press, San Francisco.

Gildon A. and Tinker P.B. 1983.

Intractions of vesicular arbuscular mycorrhizal infections and heavy metals in plants. I: The effect of heavy metals on development of vesicular arbuscular mycorrhizal New phytol. 95: 247-261.

Giordano, P.M., May, D.A. et Behl, A.D. 1979

Soil temperature effects on uptake of cadmium and zinc by vegetables grown on sludge-amended soil. J. Environ. Qual. 8:233-236.

Glauser, S.C., Bello, C.T. & Glauser, E.M. 1976

"Blood cadmium levels in normotensive and untreated hypertensive humans"
Lancet, 1976, 1, 717-718.

Godin, P. 1983

Les sources de pollution des sols; essai de quantification des risques dus aux éléments traces. Science du sol. 73-88.

Godin, P. 1986

Modeles pour une évaluation de la pollution des sols.
Thèse de Doct. Ingénieur, INA Paris-Grignon, 167p.

Goudot-perrot, A.1983.

Les métaux des mécanismes de la vie.
Maloine s.a éditeur-Paris.

Goy, D. 1988

Etude bibliographique sur la biohydrométallurgie.
D.E.A.; INPL Nancy.

Graff, H.J. and Schwantes, H. 1983

The effects of cadmium, zinc, lead and mercury on respiration and fermentation of
Saccharomyces cerevisiae. Angew. Bot. 57: 31-34.

Gregory R.P.G.; Bradshaw. A.D. 1965

Heavy metal tolerance in populs
Bull. environ.Contamin. Toxicol. , 1977, 17, 1, 66-73.

Harborne, J. B. 1982

Introduction to Ecological Biochemistry.
Academic press inc.London. pp.17-19.

Harmouch N., 1991

Recherche de micro-organismes dégradant les produits de préservation.
D.E.A Sciences du bois Univ. Nancy1.

Hatch, D.J.; Jones, L.H.P. et Bureau, R.G. 1988

The effect of pH on the uptake of cadmium by four plant species grown in flowing
solution culture. Plant and soil, 105:121-126.

Heller, R.; Esnault, R. ; Lance, C. 1993

Physiologie végétale 5^e édition- MASSON Paris Milan Barcelone.

Homer, F.A.; Morrison, R.S.; Brooks,R.R.; Clemens, J. and Reeves, R.D. 1991

Comparative studies of nickel, cobalt, and copper uptake by some nickel
hyperaccumulators of the genus Alyssum. In: Plant and Soil (1991) 138:195-205.

Huffman, E.W.D. et Hodgson J.F. 1973

J. Environ. Qual., 2:289-291.

Ibrahimzadeh Mabud, H 1984

Physiologie végétale Vol. 2 "Nutrition et absorption"
Univercité de Téhéran

Iwai, I.; Hara, T. & Sonoda, I. 1975.

Factors affecting cadmium uptake by the corn plant.
Soil Sci. Plant Nutr., 21:37-46.

- Jarvis, S.C. et Jones, L.H.P. 1978.**
Uptake and transport of cadmium by perennial ryegrass from flowing solution culture with a constant concentration of cadmium. *Plant Soil*. 49: 33-342.
- Jing, J. and Logan, T.J. 1992**
Effect of sewage sludge cadmium concentration on chemical extractability and plant uptake. In: *Journal of Environmental Quality* . 21:73-81 (1992).
- John, M.K. et Van Laerhoven. 1976.**
Differential effect of cadmium on lettuce varieties.
Environ. Pollut., 10:163-173.
- Juste, C. et Solda, P. 1984.**
Factors influencing heavy metal availability in field experiments with sewage sludges. *Chemical methods for assessing bio-available metals in sludges and soils* (eds: R. Lescher, R.D. Davis and P.L'Hermite), 82-88, Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Juste, C. et Solda, P. 1977.**
Effets d'application massives de boues urbaines riches en cadmium et en nickel sur une monoculture intensive de maïs In first European Symposium treatment and use of sewage sludge. *Ministere de l'Environnement, France C.E.C.* p. 372-382.
- Karavaiko, G.I. and Groudev, S.N. 1985**
Biogeotechnology of metals. International seminar on modern aspects of microbiological hydrometallurgy (24 may-25 juine 1982, Moscow-Sophia).
- Kastori, R. Petroic, M. Petroic, N. 1992.**
Effet of excess lead, cadmium, copper, and zinc on water relations in sunflower. *Journal of plant nutrition*, 15(11):2427-2439.
- Kettani, M. 1988**
Contribution à l'étude de la pollution des champignons par des métaux lourds.
Thèse Doc. Univ. Angers.
- Kieffer, F. 1991**
Metals as Essential Trace Elements for Plants, Animals, and Humans. In: *Metals and Their Compounds in the Environment*. VCH Weinheim . New York . Basel . Cambridge (1991) 481-490.
- Kilbertus, G. Chenouf, S. et Eshghi, B. 1995**
Le fer, Rapport préliminaire Université de Nancy I- 60 p.
- Kim, S.J., Chang, A.C. Page, A.L. et Warneke, J.E. 1988**
Relative concentrations of cadmium and zinc in tissue of selected food plants grown on sludge-treated soils. *J. Environ. Qual.*, 17:568-573.
- Kolodkine, P. 1972**
Focus international "Connaissance de la matière".
Bordas. Paris 383-384.

- Kuboi, T.; Nogochi, H. et Yazaki, J. 1986**
Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plant.
Plant and Soil, 92:405-415.
- Kumar, P.B.A.N.; Dushenkov, V.; Motto, H. and Raskin, I. 1995**
Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils.
Environ. Sci. Technol. 29: 1232-1238.
- Lamand, M. 1981**
Le rapport sol-plante, pathologie animale.
In: Milieu, pathologie et prévention chez les ruminants INRA Publ. p. 111-121.
- Lapedes D.N. 1974**
Dictionary of scientific and technical terms
New-York, McGraw Hill.
- Lauwerys, R. 1982**
Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles
Masson Paris.
- Lee, J.D. 1979**
Précis de chimie minérale, Dunod Université. Bordas, Paris, 282 p.
- Lee, J., Reeves, R.D., Brooks, R.R. and Jaffré, T. 1978**
In: Metal tolerance in higher plants. In: Metals and Their Compounds in the
Environment. VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge.411-417.
- Levesque, L. 1975**
Les micropolluants minéraux dans les superficielles continentales.
Rapport n°2 L'aluminium, fer, manganèse, molybdène, vanadium, titane.
- Levesque, L. 1978a**
Les micropolluants minéraux dans les eaux superficielles continentales.
Rapport n°4 Le zinc et le cadmium (7-24).
- Levesque, L. 1978b**
Les micropolluants minéraux dans les eaux superficielles continentales.
Rapport n°6 Le chrome, le cuivre et le nickel.
- Levesque, L. 1985**
Les micropolluants minéraux dans les eaux superficielles continentales.
Rapport n°4 Le zinc et le cadmium.
- Lewis, G.P.; Jusko, W.J., Coughlin, L.L.; Hatz, C. 1972**
Contribution of cigarette smoking to cadmium accumulation in man.
Lancet, 1972, 1, 291.
- Little, P. et Martin, M.H. 1972**
A survey of zinc, lead and cadmium in soil and natural vegetation around a smelting
complex. Environm. Pollut. 1972, 3,3: 241-254.

Macaski, L.E.; Dean, A.C. 1982

Cadmium accumulation by microorganisms.
Environmental technology letters, 3: 49-56.

Maclelan, A.J. 1976

Cadmium in different plant species and its availability in soil as influenced by organic matter and addition of lime, P, Cd and Zn. Can. J. Soil Sci., 56:129-138.

Maës, M. 1986

Déchets Industriels mode d'emploi.
Technique et Documentation -Lavoisier Paris 1986.

Marschner, H. 1985

Mineral Nutrition of Higher Plants.
Institute of Plant Nutrition University Hohenheim Germany.

Maze, P. 1914

Recherche de physiologie végétale. Influence respective des éléments de la solution minérale sur le développement du maïs.
Ann. Inst. Pasteur, 28, 21-68.

McKenna, I.M.; Chaney, R.L. et Williams F.M. 1991

The effect of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. Environmental pollution 79(1993) 113-120.

Meneilly, T. et Bradshaw, A.D. 1968

Evolutionary processes in populations of copper tolerant *Agrostis tenuis*, Sibth.
Evolution 22: 108-118.

Memon, A.R. et Yatazawa, M. 1982

Chemical nature of manganese in the leaves of manganese accumulator plants. Soil Sci. Plant Nutr., 28(3), 401-412.

Mench, M. Morel, J.L. Guckert, A. et Gillet B. 1988

Metal binding with exudates of low molecular weight, J. Soil Sci., 39:521-527.

Merian E. 1991

Metals and Their Compounds in the Environment.
VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge.

Mitchell, R.L. and Burridge, J.C. 1980

Trace elements in soils and crops, In: Environmental Geochemistry and health.
The Royal Society, London March 1978, p. 15-24.

Morel, J.L. 1985

Contribution à l'étude des transferts de métaux lourds dans le système sol-plante.
Thèse de doctorat Institut National Polytechnique de Lorraine.

Morrison, G.H. 1979

Role of Trace Elements in Biology.

C.R.C Critical Reviews in Analytical Chemistry. (1979) 8.

Muskett, C.J., Roberts, L.H. et Page, B.J. 1979

Cadmium and lead pollution from secondary metal refinery operations

Sci. Total Environ. 1979, 11, 1, 73-87.

Nellessen, J.E. and Fletcher, S. 1993

Assessment of published literature on the uptake, accumulation, and translocation of heavy metals by vascular plants. Dept. of Botany and Microbiology, University of Oklahoma Norman, OK 73019.

Norris, P.R.; Kelly, D.P. 1977

Accumulation of cadmium and cobalt by *Saccharomyces cerevisiae*.

Jornal of General Microbiology, n°99, 317-324.

Nragu, J.O. and Pacyna, J.M. 1988

Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. Nature 333: 134-139.

Orster R.J. and Hollad G.E, 1982

Degradation of tributyltin oxide by fungal culture filtrats

International biodeterioration bulletin, ISSN 0020-6164 18(4) Winter.

Page, A.L., Bing, F.T. Chang, A.C. 1981

Chapter 3, Cadmium. In: Effect of heavy metal pollution on plant, volume

1: Effect of Trace Metals on plant fonction. Edited by Lepp, N.W. Applied Science Publishers

Page, A.L. et Bigham, F.T. 1973

Cadmium residues in the environment, Residue Reviews, 48:1-44.

Peterson, A.E. 1986

Essential and toxic heavy metals in soil and plant tissue from municipal sewage sludge applications to cropland.

proc. of 13th Congress of Intl. Soil. Sci., 425-427, Hamburg, Germany.

Peterson, P.J. 1971

In: Metal tolerance in higher plants. In: Metals and Their Compounds in the Environment. VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge. 411-417

Petroic, N. Kastori, R. and rajican, I. 1990

The effect of cadmium on nitrate reductase activity in sugar beet (*Beta vulgaris*),. In: M.L. Van Beusichem (ed) Plant Nutrition-Physiology and applications pp. 107-109. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Petterson, O. 1977

Differences in cadmium uptake between plant species and cultivars.

Swed. J. Agric. Res., 7:21-24.

Phipps D.A. 1981

Chemistry and biochemistry of trace metals in biological systems.

In. Effect of heavy metal pollution on plants. Vol. 1. Effectes of trace metals on plant function. N.W. Lepp ed. Applied Science publishers, London and New jersey, P. 1-54.

Porter, E.K. and Peterson, P.J. 1975.

J. Sci. Total Environ. 4, 365-371.

Ragaini, R.C.; Ralston, H.R. et Roberts, N. 1977

Environmental metal contamination in Kellog, Idaho, near a lead smelting complex. Environ. Sci. Technol., 11, 8: 773-781.

Raskin, I.; Kumar,P.B.A.N.;Dushenkov, S. and Salt, D. 1994

Bioconcentration of heavy metals by plants. Biotechnology, vol. 5. N°3 pp. 289-290.

Reddy, C.N. et Patrick, W.H. 1977

Effect of redox potential and pH on the cadmium and lead by rice plants. J. Environ. Qual., 6:259-262.

Reilly, C. 1969

The uptake and accumulation of copper by *Becium hombliei* Duign. and Plancke. New Phytol. 48: 1091-1087.

Richter, G. 1993

Métabolisme des végétaux
Physiologie et biochimi, Presses polytechniques et universitaires romandes.

Richter, R. et Hlusek, B. 1986

The effect of available Zn, Cd and Pb in soil on their concentrations in organs of root vegetables, proc. of 13th congress of Intl. Soil Sci. Soc., 447-448, Hamburg, Germany.

Roux, J.C.; Fourest, È. et Milande, N. 1993

Le champignon prise le métal. Biofutur. Décembre 1993.

Salt, D.E.; Blaylock, M.; Kumar, P.B.A.; Dushenkov, V.; Ensley, B.D.; Chet, I.; Raskin, I. 1995

Phytoremediation: A novel stratgy for the removal of toxic metals from the environment using plants. Biotechnology May 1995, 468-474.

Sameni, A.M., Maftoun, M. et Bassiri. 1987

Reponses of tomato and sweat corn to different cadmium levels in calcareous soil. J. of Horticul. Sci., 62:227-232.

Sanglmsuwa, S.; Yishida, N.; Morinaga, T.; Murooka, Y. 1993

Resistance to and uptake of heavy metals in mushrooms. J. fermentation and Bioengineering. Vol. 75, N° 2, pp. 112-114.

Schell, N. 1989

Bioaccumulation de cadmium et d'uranium par des champignons du sol à partir de constituants minéraux insolubles.D.E.A Institut National Agronomique. Univ. Nancy I.

- Schneider, I.A.H.; Misra, M.;Smith, R.W. 1994**
 Biosorption of heavy metals and uranium from dilute solutions. Separation Processes "Heavy Metals Ions and Minerals" The Minerals, Metals & Materials Society.
- Scott, D. Cunningham and Berti, R. 1993**
 Remediation of contaminated soils with green plants.
 In Vitro Cell. Dev. Biol. 29p: 207-212.
- Searcy, K.B. and Mulcahy, D.L. 1985**
 In: Metal tolerance in higher plants. In: Metals and Their Compounds in the Environment. VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge. 411-418
- Shariat, M 1976**
 Oligo-éléments dans l'eau et leur effet sur la santé.
 Univ. Téhéran Fac. Santé
- Shewry, P.R., Woolhouse, H.W.,Thompson, K. 1979**
 Relations of vegetation to copper and cobalt in the copper clearings of Haut Shaba, Zaire
 Bot. J. Linn. Soc. 79: 1-35.
- Shumate, S.E.; Strandberg, G.W.; Parrott, J.R. 1978**
 Biological removal of metal ions from aqueous process streams.
 Biotechnology & Bioengineering Symp. 8:13-20.
- Siegel, S.M.; Galun, M.; Siegel, B.Z. 1990**
 Filamentous fungi as metal biosorbents
 Water, Air and Soil pollution 53: 335-344
- Sikora, F.J. et Wolt. J. 1986**
 Effect of Cd and Zn treated sludge on yield and Cd, Zn uptake of corn.
 J. Environ. Qual., 15:341-345.
- Singh, D.P. and Sing, S. 1987**
 Action of heavy metals on hill activity and O₂ evolution *Anacystis nidulans*.
 Plant Physiol. 83: 12-14.
- Sranberg, S.E.; Shumate, S.E.; Parrot, J.R. 1981**
 Microbial cells as biosorbents for heavy metals: accumulation of uranium by *Saccharomyces cerevesiae* and *Pseudomonas aeruginosa*.
 Applied and Environmental microbiology, 41:237-241.
- Stokinger, H.E. 1981**
 Copper
 In: Patty's Industrial Hygiene and Toxicity 3rd revised edition, Vol. 24, pp. 1620-1630.
- Sunderman, F.W. 1983**
 Nickel et environnement humain.
 Colloque CIRC-Lyon 1983.

Symeonidis, L., McNeilly, T. Bradshaw, A.D. 1985

In: Metal tolerance in higher plants.

In: Metals and Their Compounds in the Environment. VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge. pp.411-418.

Tauzin, J. et Juste, C. 1986

Effet de l'application à long terme de diverses matières fertilisantes sur l'enrichissement en métaux lourds de parcelles nues.

C.R. Fin d'Etude, Convention n° 4193, Ministère de l'Environnement, Neily-sur-Seine, Paris.

Tenzos, M. 1984

Recovery of uranium from biological adsorbent-desorption equilibrium.

Biotechnology & bioengineering, vol 26, pp 973-981, august 1984.

Tiffin, L.O. 1972

Translocation in plant.

In: Micronutrients in Agriculture, Mortvedt, J.J.; Giordano, P.M. et Lindsay, W.L., eds. Soil Sci. Soc. Am. Inc. Madison, 645 p.

Tobin, J.M.; Cooper, D.G.; Neufeld, R.J. 1984

Uptake of metal ions by *Rizopus arrizus* biomass.

Applied and Environmental microbiology, 47: 821-824.

Toda, N. 1973

"Influence of cadmium ions on contractile response of isolated aortas to stimulatory agents". Amer J physiol., 1973; 225, 350-35

Treen-sears, M.E.; Volesky, B.; Neufeld, R.J. . 1984

Ion exchange complexation of the uranyl ion by *Rizopus* biosorbent.

Biotechnology & Bioengineering, 26: 1323-1329.

Tsezos, M. & Volesky, B. 1981

Biosorption of uranium and thorium.

Biotechnology & Bioengineering, 23: 583-604.

Tsezos, M. 1983.

The role of chitin in uranium adsorption by *Rhyzopus* .

Biotechnology & bioengineering, vol 25 pp 2025-2040.

Tu, S.I. and Brouillette J.N. 1987

Metal ion inhibition of cotton root plasma membrane ATPase.

Phytochemistry 26: 65-69.

Tyler, L.D. et McBride. 1982

Influence of Ca, pH and Humic Acid on Cd Uptake

Plant Soil, 64:259-262.

- Ueda, K., Kobayashi, M. and Takahashi, E. 1988**
Effect of anionic heavy metals on ammonification and nitrification in soil.
In: Soil Science and Plant Nutrition (1988) 34(1):139-149.
- Van Assche, F. and Clijsters, H. 1988**
Induction of enzyme capacity in plants as a result of heavy metal toxicity: Dose-response relation *Phaseolus vulgaris* L treated with zinc and cadmium. Environ. Pollut. 52: 103-115.
- Vazquez, M.D. Poschenrieder, Ch. and Barceid, J. 1987**
Chromium VI induced structural and ultrastructural changes in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). Ann. Bot. 59: 427-438.
- Vilain M., 1993**
La production végétale. La maîtrise technique de la production.
Sciences Techniques Applications, 2: 344.
- Vinson, J.A. and Hsiao, K.H. 1985**
Comparative Effect of Various Forms of Chromium on Serum Glucose:
An Assay for Biologically Active Chromium Nutr. Rep. Int. 32:1-7.
- Wallace, A. et Berry, W.L. 1981**
Trace element stress in plants. Effects and methodology.
Special symposium issue of Journal of Plant Nutrition. 3:741 p.
- Walley, K.A.; Khan, M.S. et Bradshaw, A.D. 1974**
The potential of evolution of heavy metals tolerance in plants: 1. Copper and Zinc tolerance in *Agrostis tenuis*. Heredity, 32: 309-319.
- Weil, E. 1975**
Éléments de toxicologie industrielle, Ed Masson.
- Weinberg, E.G. 1977**
Microorganismes and minerals.
Microbiology Ser. Vol. 3, 492rp. Marcel Dekker Inc. Publ. New York.
- Weissenhorn, I.; 1994**
Les mycorhizes à arbuscules dans des sols pollués par des métaux lourds: tolérance aux métaux et rôle dans leur transfert aux plantes. Thèse Doc. Univ. Nancy 1
- White, M.C.; Baker, F.D.; Chaney, R.L. et Decker, A.M. 1981**
Metal complexation in xylem fluid: II. Theoretical equilibrium model and computational computer program. Plant Physiol., 67:301-310.
- Wild, H. 1978**
The vegetation of heavy metal and other toxic soils.
In: Werger MJA (ed) Biogeography and ecology of Southern Africa. Junk, the Hague.

- Wild, H. 1968**
Geobotanical anomalies in Rhodesia, The vegetation of copper-bearing soils. *Kirkia* 7:1-71.
- Wildeman, E. de 1921**
Comité Special du Katanga, Bruxelles. Contribution à l'étude de la flore du Katanga.
- Wilkins, D.A. 1978**
The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytol.* 80: 623-633.
- Williams, E.H. et David, E.J. 1977**
Some effects of the distribution of cadmium and phosphate in the root zone on the cadmium content of plants *Austr. J. Soil Res.*, 15:59-68.
- Williams, M.A.J. and Kirk, P.M. 1988**
In: *Physiology of industrial fungi*. D.R. Berry, Ed. Blackwell Scientific Publications Oxford-London. 1-7.
- Woolhouse, H.W., 1983**
Toxicity and Tolerance in the Responses of Plants to Metals. In: Long, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B. and Ziegler. *Physiologica plantecology III. Encyclopedia of plant physiology III*, pp. 245-300. New series VII. 12C Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Wu, L. and Kruckenberg, A.L. 1985**
In: Metal tolerance in higher plants. In: *Metals and Their Compounds in the Environment*. VCH Weinheim, New York, Basel, Cambridge. 411-418.
- Wu, Q.T., 1989**
Biodisponibilité du cadmium dans des systèmes sol-plante.
Thèse Doc. Sciences Agronomiques INPL.
- Wysowski, D.K.; Landrigan, P.J.; Ferguson, S.W. 1978**
Cadmium exposure in a community near a smelter, *Amer. J. Epidemiol.* 107,1: 27-35.
- Zaccheo, P. et Garbarino. 1986**
Absorption and location of cadmium in *Avena sativa* and its interaction with manganese. *Agrochimica*, 30:397-408.
- Zajik, J.E. & Chiu, Y.S. 1972**
Recovery of heavy metals by microbes, *Dev. ind. microbiol.*, vol 13, pp 91-100.
- Zekad, M. 1982**
Etude dynamique de la teneur en métaux lourds dans un sol brun lessivé après addition de résidus urbains, Thèse Doc. INPL.
- Zibilske, L.M.; Wagner, G.H. 1981**
Bacterial growth and fungal genera distribution in soil amended with sewage sludge containing cadmium, chromium and copper. *Soil. Sci.* 134: 364-370.

Table des matières

RESUME	2
ABSTRACT	3
INTRODUCTION	4
 CHAPITRE I : Généralités sur les métaux lourds	
I. 1. Définitions	6
I. 2. Propriétés physico-chimiques	6
I. 3. Rôle physiologique	8
I. 3. 1. Rôle physiologique du fer	10
I. 3. 2. Rôle physiologique du zinc	11
I. 3. 3. Rôle physiologique du cuivre	12
I. 3. 4. Rôle physiologique du nickel	12
I. 3. 5. Rôle physiologique du chrome	12
I. 3. 6. Rôle physiologique du cadmium	12
I. 4. Toxicité	13
I. 4. 1. La toxicité du fer	15
I. 4. 2. La toxicité du zinc	15
I. 4. 3. La toxicité du cuivre	15
I. 4. 4. La toxicité du nickel	16
I. 4. 5. La toxicité du chrome	16
I. 4. 6. La toxicité du cadmium	17
 CHAPITRE II : Étude bibliographique	
II. 1. La pollution par les métaux lourds	18
II. 1. 1. Le fer	19
II. 1. 2. Le zinc	19
II. 1. 3. Le cuivre	19
II. 1. 4. Le nickel	19
II. 1. 5. Le chrome	20
II. 1. 6. Le cadmium	20
II. 2. État des métaux lourds dans le sol	21

II. 3. Bio - accumulation des métaux lourds par les champignons	22
II. 3. 1. Interaction entre les métaux lourds et les champignons	22
II. 3. 2. Toxicité des métaux lourds pour les champignons	22
II. 3. 3. Absorption des métaux lourds par les champignons	22
II. 3. 4. Résistance des champignons aux métaux lourds	24
II. 4. Bio - accumulation des métaux lourds par les plantes:	26
II. 4. 1. Présence de métaux lourds dans les tissus végétaux	26
II. 4. 2. Transfert des métaux lourds entre le sol et les plantes	27
II. 4. 3. Répartition des métaux lourds dans la plante	29
II. 4. 4. Interaction entre les métaux lourds et autres éléments	31
II. 4. 5. Les plantes tolérantes et accumulatrices des métaux lourds	31
 CHAPITRE III : Bio-accumulation des métaux lourds par les champignons :	
III. 1. Matériel et méthodes	35
III. 1. 1. La boue industrielle	35
III. 1. 2. Milieux de culture	36
III. 1. 3. La sensibilité des champignons aux métaux lourds	36
III. 1. 4. Isolement des champignons tolérants aux métaux lourds	37
III. 1. 5. Mesure d'adsorption des métaux lourds par les champignons	37
III. 1. 6. Estimation de la quantité de métaux absorbée par le champignon	37
III. 1. 7. Effet de Cd sur la croissance des champignons	37
III. 2. Résultats	39
III. 2. 1. Sensibilité des champignons aux métaux lourds	39
III. 2. 2. Sélection des champignons tolérant des métaux lourds	40
III. 2. 3. Effet de la variation du pH sur le développement de <i>Penicillium</i> sp.	40
III. 2. 4. Influence du Cd(NO ₃) ₂ ·4 H ₂ O sur la croissance de <i>Penicillium</i> sp ...	41
III. 2. 5. Accumulation des métaux lourds par <i>Penicillium expansum</i>	41
III. 2. 6. Quantité de métaux lourds absorbée par une biomasse fongique.....	43
III. 3. Conclusions	44
 CHAPITRE IV : Bio-accumulation des métaux lourds par les plantes	
IV. 1. Matériel et méthodes	45
IV. 1. 1. Germination et plantation dans les boues	45
IV. 1. 2. Mesure de la biomasse et de l'absorption des métaux par les plantes..	45
IV. 2. Résultats	45
IV. 2. 1. Teneur en métaux lourds des milieux de culture	45

IV. 2. 2. Germination des graines dans les boues	46
IV. 2. 3. Résistance et développement des plantes dans les boues	48
IV. 2. 4 Accumulation des métaux lourds par les plantes testées	50
IV. 3. Conclusions	55
 CHAPITRE V: Action individuelle d'un métal lourd sur la plante	
V. 1. Matériel et méthodes.	57
V. 2. Résultats	58
V. 2. 1. Effet du cadmium sur germination des graines	58
V. 2. 2. Effet du cadmium sur la croissance des plantes.....	58
V. 2. 3. Degré d'accumulation de cadmium par la tomate	60
V. 2. 4. Influence de cadmium sur l'accumulation des métaux par la tomate..	61
V. 3. Conclusions	63
 CHAPITRE VI : Bio-accumulation des métaux lourds par les plantes spontanées	
VI. 1. Évolution de la végétation sur les boues	64
VI. 2. Évolution saisonnière de la flore	69
VI. 3. Teneur en métaux lourds des plantes spontanées	70
VI. 4. Accumulation des métaux lourds par les plantes bisannuelles	74
VI. 5. Accumulation des métaux lourds par les mousses	74
VI. 6. Présentation de certaines plantes poussant sur la boue.....	76
V. 3. Conclusions	81
 CONCLUSIONS GENERALES.....	82
 RÉFÉRENCES	84
 ANNEXES	100

Annexes

Annexe 1

Milieux de culture

Milieu de culture solide pour les champignons (MG):

Extrait de malt	15 g
Gélose (agar-agar)	15 g
Eau distillée	1 000 ml

Milieu de culture liquide pour les champignons:

Extrait de malt	15 g
Eau distillée	1000 ml

Suspension de "T.S."

Tryptone	1 g
NaCl	8,5 g
Eau distillée	1 litre
pH ajusté à	7

Solution nutritive "Hogland" pour les plantes:

KNO ₃ (25 g/l)	10 ml
KH ₂ PO ₄ (7 g/l)	10 ml
Mg ₂ SO ₄ , 3H ₂ O (12 g/l)	10 ml
Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O (5 g/l)	10 ml
FeSO ₄ (36g/l)	1 ml
Milieu A5(Arnon)	1 ml

Pour 1 litre

Milieu A5:

MnCl ₂ , 2 H ₂ O	1,81 g/l
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	0,222 g/l
CuSO ₄ , 5 H ₂ O	0,079 g/l
MoO ₃	0,1506 g/l
H ₃ BO ₄	2,86 g/l

Annexe 2

F.A.O. RECOMMENDED MAXIMUM CONCENTRATION OF METALS IN IRRIGATION WATER (mg/l)*

Metal	For water used continusly on all soils	For use up to 20 years on finetextured soils of pH: 6,0 to 8,5
Ag	0,1	Cu
Al	5	20
As	0,1	2
Cd	0,01	0,05
Cr	0,1	1
Co	0,05	5
Cu	0,2	5
Fe	5	20
Pb	5	10
Li	0,075	0,075
Mn	0,2	10
Ni	0,2	2
Zn	2	10

*Bazargan 1989

WHO*. RECOMMENDED LIMITS FOR METAL CONTENT OF DRINKING WATER

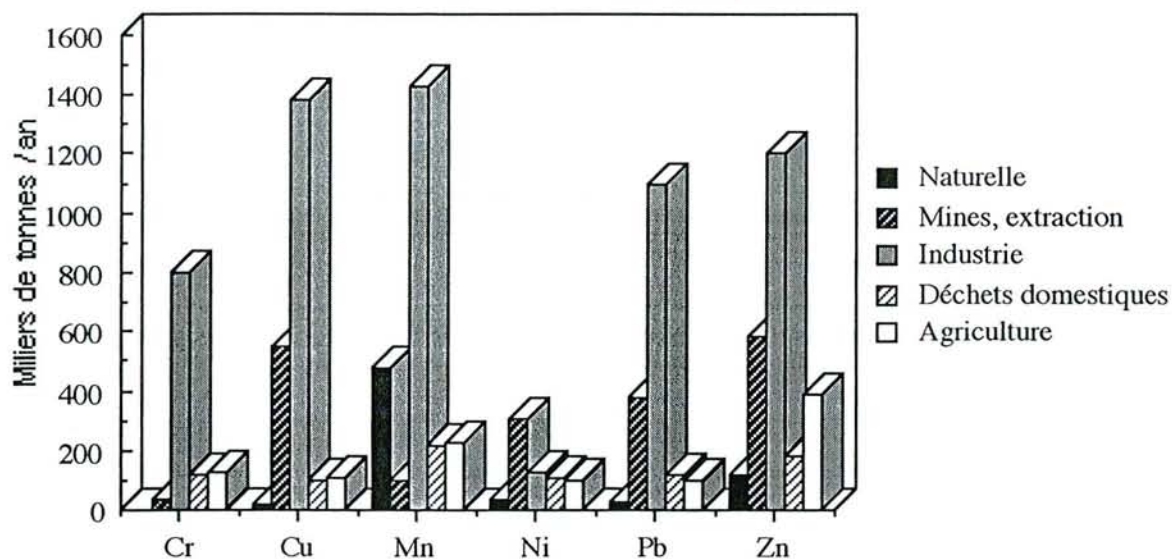
Metal	$\mu\text{g/l}$
As	50
Cd	10
Cu	50
Hg	1
Se	10
Pb	100
Zn	5 000

* World Health Organization International

Annexe 3

La pollution par les métaux lourds

Sources de dissémination des métaux lourds dans l'environnement*



Teneur en métaux des sols et des légumes arrosés par l'eau contaminé**

Teneur en métaux de l'eau et du sol (ppm)

Plante	Cd	Pb	Cr	Ni	Zn
Eau	0,0056	0,088	0,13	2,58	0,2
Sol	1,15	7,1	2	1,4	156

Teneur en métaux des plantes (ppm M.S.)

Plante	Cd	Pb	Cr	Ni	Zn
Persil	0,25	3,25	2,60	4,30	6,10
Poireau	0,57	9,85	5,50	3,60	22,20
Salsifis	0,10	5,20	7,10	2,80	-
Luzerne	0,47	12,60	3,10	5,80	25,60
Cresson	0,40	8,70	2,30	4,80	37,70
Epinard	0,44	11,50	5,60	6,10	38,50
Radis	0,10	9,80	2,50	3,40	21,10
Chou Brux.	0,45	4,40	2,10	5,60	13,20
Chou fleur	0,11	8,20	6,60	4,10	24,80
Laitue	0,36	10,40	4,60	5,10	19,40

* Nriagu et al. 1988

** Bazargan 1989

Annexe 4

Classification périodique des éléments

Bloc s												Bloc p					
H		<div style="display: inline-block; width: 15px; height: 15px; background-color: #cccccc; margin-right: 5px;"></div> <i>Métaux lourds de densité > 5</i>														H	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg	Bloc d										Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Bloc f														
Lanthanides			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	
Transuraniens			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr	

BIO-DÉPOLLUTION PAR DES CHAMPIGNONS DE BOUES INDUSTRIELLES CONTENANT DES MÉTAUX LOURDS

ESHGHI, B., CHENNOUF, S., KILBERTUS, G.

Laboratoire de microbiologie ESSTIB, Université de Nancy I, FRANCE.

ABSTRACT

Numerous soil mushrooms are assessed as to their resistance in culture with industrial sewage sludge that contained certain heavy metals (Fe, Zn, Cu, Ni, Cr and Cd).

Also quantities of heavy metals in *Penicillium* sp. measured by atomic absorption spectrophotometry show a marked bio-accumulation capacity toward heavy metals.

Modification of this bio-accumulation ability can be useful in biological treatment of polluted soils.

INTRODUCTION

La pollution est une concentration élevée de composés chimiques ou biologiques se trouvant normalement à l'état dilué dans la nature. Les métaux lourds, à l'état de traces dans la nutrition des plantes, des animaux et de l'homme, ne sont pas dangereux et sont même nécessaires pour la vie. C'est en fait leur présence en grande quantité et leurs formes chimiques qui les rendent éventuellement toxiques (Woolhouse, 1983; Merian, 1991).

La nature peut répondre à ces problèmes de pollution en trouvant progressivement une solution adaptée (Dave et Natarajan, 1980). Dans le but de dépolluer des boues industrielles contenant des métaux lourds, nous avons recherché des organismes vivants susceptibles de diminuer les toxicités ou changer les formulations chimiques de ces résidus (Drapeau et al., 1983; Harmouch, 1991).

به نام خدا

پاکسازی خاکهای آلوده به فلزات سنگین به کمک قارچها و گیاهان فلزات سنگین به مقدار بسیار جزئی در تغذیه گیاهان و جانوران نه تنها خطر ناک نیستند بلکه برخی از آنها از جمله عناصر ضروری در واکنشهای حیاتی مصوب میشوند. در واقع میتوان گفت که کمیت و فرم شیمیایی این عناصر است که موجب سمیت آنها میگردد.

در این تحقیق به منظور بررسی امکان پاکسازی بیولژیک خاکهای آلوده به فلزات سنگین، اثر سمی یک نمونه پساب صنعتی حاوی عناصر سنگین روی رشد گیاهان و قارچها مطالعه و میزان ذخیره سازی این عناصر به وسیله گونه‌های مقاوم مورد سنجش قرار گرفته است.

برخی قارچها محیطهای حاوی تا ۳۰ گرم در لیتر فلزات سنگین را تحمل نموده و یک گونه آسکو میست (پنی سیلیوم اکسپانوم) توانایی ذخیره سازی این عناصر را تا حدود ۹۰ برابر مقدار طبیعی نشان داده است. البته به علت ناچیز بودن تولید محصول مقدار کل فلزات سنگین قابل استخراج توسط قارچها چندان قابل توجه نمیشود.

تعدادی از گونه‌های گیاهی معرفی شده در این گزارش خاکهای آلوده به فلزات سنگین را بخوبی تحمل نموده و برخی از آنها تا ۱۱ برابر گیاهان شاهد عناصر سنگین را در خود ذخیره نموده‌اند.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داده است که امکان پاکسازی خاکهای آلوده به فلزات سنگین با استفاده از گیاهان خصوصاً گونه‌های خودرو بیشتر می‌باشد و این روش میتواند بعنوان مکمل روشهای فیزیکی شیمیایی جهت حفاظت خاک و کاهش آلودگی محیط زیست مورد استفاده قرار گیرد.

Nom: ESHGHI MALAYERI

Prénom: Behrouz

DOCTORAT de l'UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY-I

en BIOLOGIE DES ORGANISMES

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 20 NOV. 1995 n° 403

Le Président de l'Université



RESUME

Certains métaux lourds à l'état de trace dans la nutrition des vivants, non seulement ne sont pas dangereux mais sont nécessaires pour la vie. C'est les quantités et les formes chimiques qui rendent éventuellement ces éléments toxiques. Cette recherche est focalisée sur la biodépollution des sols contaminés par des métaux lourds

On a sélectionné des champignons et des plantes susceptibles d'accumuler les métaux lourds et de diminuer leurs quantités dans les sols pollués. L'effet toxique des boues industrielles contenant des quantités élevées de métaux lourds sur la croissance des champignons et des plantes a été déterminé.

Les champignons métallo-tolérants peuvent survivre dans un milieu contenant jusque 30 g/l de métaux lourds. Une souche d'ascomycètes (*Penicillium expansum*) peut accumuler environ 90 fois de métaux lourds par rapport au champignon témoin. Cependant, la quantité des métaux lourds retenue par ces micro-organismes, par rapport à leurs quantités totales, est négligeable. Certaines plantes cultivées ou spontanées présentent une grande tolérance aux sols contenant des doses élevées de métaux lourds. Parmi ces derniers certaines espèces montrent une capacité d'accumulation jusque \approx 11 fois celle de plantes témoins. Ces plantes peuvent réduire la pollution du sol.

Ces résultats confirment la réduction de la teneur des agents nocifs dans le sol. Ceci représente une première étape de la biodépollution du sol et contribue à la protection de l'environnement.

MOTS - CLES

métaux lourds, fer, zinc, cuivre, nickel, chrome, cadmium, toxicité, accumulation, bio-accumulation, plantes, champignons, bio-détoxication, dépollution, sol, boue, environnement.

ABSTRACT

Certain heavy metals in the nutrition of living being are not dangerous and are necessary for life. It is the quantity present and the chemical nature that make those elements eventually toxic. This research is focalized on the biodecontamination of the soil containing heavy metals.

Fungus and plants, susceptible of accumulating heavy metals and decreasing their content in the polluted soil, have been selected. The toxic effect of industrial sludge having high content of heavy metals on the growth of fungus and plants have been determined.

Metal-tolerant mushrooms could survive in solutions containing up to 30 g/l of heavy metal. A species of ascomycetes (*Penicillium expansum*) can accumulate heavy metals about 90 times that of uncontaminated fungi. However, the quantity of heavy metal retained by these microorganisms, with respect to their total amount, is negligible. Certain plants cultivated or grown spontaneously on the industrial sludge demonstrate their capacity of accommodation with respect to polluted soils. Among these species some show an accumulation capacity of about 11 times that of uncontaminated ones. These plants can reduce the soil pollution.

These results confirm the reduction of the harmful agents content in the soil. This represents a first step in the process of soil decontamination and contributes to environment protection.