



N° d'ordre : 182/2018

## THÈSE

Présentée par

**Taoufik EL RASAFI**

Pour obtenir le grade de

## DOCTEUR

Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques

Formation Doctorale : Ressources Naturelles, Environnement et Santé

Spécialité : Génie d'Environnement et Biologie Végétale

---

*Étude des effets des éléments traces métalliques sur la croissance des plantes et rôle des amendements organiques dans la phytoremediation des sites contaminés.*

---

Soutenue publiquement le 08/12/ 2018, devant le jury composé de:

|                   |   |                       |
|-------------------|---|-----------------------|
| Pr. OUATMANE A.   | Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal                 | Président             |
| Pr. HADDIOUI A.   | Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal                 | Directeur de thèse    |
| Dr. MARQUES C. R. | Département de Biologie, & CESAM, Université d'Aveiro, Portugal | Co-directeur de thèse |
| Pr. AMIR S.       | Faculté Poly-disciplinaire, Béni Mellal                         | Rapporteur            |
| Pr. GHOULAM C.    | Faculté des Sciences et Techniques Guéliz, Marrakech            | Rapporteur            |
| Pr. EL HANSALI M. | Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal                 | Rapporteur            |
| Pr. HAMMADA S.    | Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal                 | Examineur             |
| Pr. HAMDALI H.    | Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal                 | Examineur             |



# *Dédicaces*

A mes très chers parents

Sources inépuisables d'amour, d'affection et de sacrifices. En témoignage de ma reconnaissance pour leur inéluctable patience, leur sacrifice et leur soutien au cours de mes longues études. Toutes les dédicaces du monde ne sauraient exprimer mon profond amour et ma vive gratitude. Que Dieu leur donne santé et longue vie.

A mes frères :

Je suis sincèrement reconnaissante de votre soutien et dévouement impérissable. Acceptez ici, l'expression de ma vive gratitude en témoignage de notre attachement fraternel sans égal.

A ma famille

A tous mes ami (e) s

A tous ceux qui me sont chers

Je dédie ce modeste travail.

# Remerciement

*Louange à Allah, seigneur de l'univers, le tout puissant et miséricordieux, qui m'a inspiré et comblé de bienfaits, je lui rends grâce.*

*Après des longues années de travail, l'histoire de ma thèse commença à s'afficher devant nos yeux depuis le début, avec tous nos rêves, notre immense motivation, le stress, la fatigue, les moments de faiblesse, l'espoir et le désespoir, le bonheur et les moments d'échecs et de succès. Mais, quand ce moment est venu et on arrive à la fin de la rédaction on se sent un petit peu soulagé et cette question nous s'envahisse : arriverais-je à retranscrire le plus fidèlement possible tout ce que j'aimerais dire?*

*Au terme de ce travail, je tiens à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à sa réalisation par leurs conseils, leur aide et leurs critiques.*

*Mes profonds sentiments de reconnaissances et de respect s'adressent à Mr. HADDOUÏ A., pour m'avoir guidé, formé, avec patience et persévérance, pour ses conseils, ses encouragements, pour sa disponibilité et ses orientations et pour m'avoir initié aux bases de la recherche scientifique et au raisonnement critique. Merci pour vos efforts et pour la confiance que vous m'avez témoigné le long de mes années de master et de thèse et de m'avoir laissé une liberté d'action très appréciable.*

*Je profite l'occasion aussi pour remercier infiniment mes co-directeurs de thèse : Mme Ruth Pereira et Mlle Catarina Ribeiro Marques. Ma considération est inestimable.*

*Un grand merci pour vous Mme Ruth Pereira, pour m'avoir accueillie et permis de mener mes recherches dans le Centre des Études Environnementales et Maritimes (CESAM) de l'Université d'Avéiro (Portugal). Merci pour le soutien, pour m'avoir donné les moyens nécessaires de travailler dans les meilleures conditions.*

*Catarina, Les mots sont incapables de vous remercier, mais quand même je dois dire quelques mots. Il y a maintenant bien des années mais je ne vais jamais oublier le support que tu m'as accordé le long de mon séjour au Portugal, l'aide moral et aussi financière. Merci pour m'avoir accompagné dès mes débuts au laboratoire, merci pour votre écoute, votre patience à toute épreuve, ta disponibilité, vos conseils et vos*

remarques et critiques pertinentes. Merci pour le savoir-faire et les compétences scientifiques que tu m'as transféré et qui m'ont permis de mener à bien ces travaux et bien sûr qui vont m'aider pour réussir ma vie professionnelle. Tu m'as appris la méthodologie de travail afin de ne pas se tromper de chemin.

J'adresse une pensée particulière à Mr. Le Professeur Fernando Gonçalves, j'ai beaucoup aimé nos discussions sur le darwinisme. J'ai encore les livres que vous m'avez donnés. Merci à vous.

Je tiens particulièrement à exprimer ma plus profonde gratitude aux membres de jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail : Mr. OUMATHANE A., Mme AMIR S., Mr. GHOULAM C., Mr. EL HANSALI M., Mme HAMMADA S. et Mme HAMDALI H.

Ce travail n'aurait pu aboutir sans l'aide de nombreuses personnes ceux qui rendent la vie plus légère et agréable au laboratoire, mes collègues, avec qui j'ai partagé de très bons moments et dont les échanges scientifiques et personnels m'ont beaucoup apporté et encouragé.

J'aimerais vivement remercier mes amis au sein de l'université d'Aveiro, Portugal: Ana Luisa (Nini), Inês Rosa, Márcia Bessa et Cyrine Bouguerra, je ne vais jamais oublier la surprise que vous m'avez faite lors de mon anniversaire, je garde toujours les photos de cette surprise. Merci aussi à Ana Patrícia, Sérgio Marques, Inês Nogueira, Joana Santos, Fernando Cozinhheiro. Toutes ces personnes (et autres que peut être j'ai oublié) que j'ai eu la chance de rencontrer et avec qui j'ai travaillé m'ont permis d'évoluer et je les en remercie.

Un grand merci aussi est adressé à mes chers professeurs du Laboratoire de Biotecnologie et Valorisation des Ressources Phytogénétiques: Said Bouda, Mouhammed Houri, Mohamed El Hansali, Soumia Hamada, Latifa Hamama et Hanane Hamdali.

Mes sincères remerciements vont aussi aux professeurs de la faculté polydisciplinaire de Béni Mellal : Younes Abbas, Mohamed Farissi, Nourddine Hamamouch, Abouddihaj barguigua, Abdelouahed Hajjaji, Hicham Berrougui, Samira Boulbaroud, Soad Hasni, Samira Amir, vous m'avez appris énormément de choses. Je suis très reconnaissant pour l'aide, l'encouragement, les conseils, la motivation et la confiance qu'ils m'ont

*accordés au cours de mon enseignement des travaux pratiques tant que doctorant contractuel. Merci à vous.*

*Merci à mon père qui a réservé du temps à l'orthographe et la ponctuation de mon manuscrit. Je sais que tu te fâches quand j'ai fait une erreur. Veuillez accepter mes excuses et je vous promets que je serai beaucoup mieux que maintenant.*

*Je ne pourrais pas non plus oublier tous ceux qui ont partagé mon bureau, mes amis du Laboratoire de Biotecnologie et Valorisation des Ressources phytogénétiques à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal, G. Kabiri, W. Bouta, Y. Ait Bella, Y. Allam, Y. Khachtib et A. Ouhdouch*

*Mes remerciements s'adressent aussi à mes amis : Anouar, Ayoub, Hamid, Rachid EL HACHIMI...*

*Évidemment je remercie aussi les membres de ma famille pour avoir toujours été présente et m'ont soutenus et encouragés depuis toujours. Merci pour tout ce que vous avez pu m'apporter à tous les niveaux. Je vous aime tous.*

*Merci à tous ceux qui ont soutenu cette aventure de près et de loin.*

*J'espère que ce travail est à la hauteur de votre confiance et de vos sentiments à mon égard.*

*Taoufik EL RAOUFI*

# Fiche présentative de la thèse

Nom et Prénom de l'auteur : *EL RASAFI Taoufik*

Intitulé du travail :

**Étude des effets des éléments traces métalliques sur la croissance des plantes et rôle des amendements organiques dans la phytoremediation des sites contaminés.**

## **Lieu de réalisation des travaux**

Ce travail de recherche a été réalisé au:

- ✓ Laboratoire de Biotechnologie et Valorisation des Ressources Phytogénétiques, Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal, Maroc,
- ✓ Centre des Études Environnementales et Maritimes (CESAM) de l'Université d'Aveiro, Portugal.

## **Période de réalisation du travail de thèse : Décembre 2012 - Juin 2018**

Cadre de coopération : Projet OTAN (Programme Scientifique pour la Paix: Réf. SfP.983311).

**Encadrant :** Pr. HADDIOUI A., PES, Laboratoire de Biotechnologie et Valorisation des Ressources Phytogénétiques, Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal, Maroc.

**Co-Encadrant:** Dr. MARQUES C.R., Centre des Études Environnementales et Maritimes (CESAM) de l'Université d'Aveiro, Portugal.

**Président :** Pr. OUATMANE A. Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal

**Rapporteurs:**

- Pr. AMIR S. Faculté Poly-disciplinaire, Béni Mellal
- Pr. GHOULAM C. Faculté des Sciences et Techniques Guéliz, Marrakech
- Pr. EL HANSALI M. Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal

**Examineur:**

- Pr. HAMMADA S. Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal
- Pr. HAMDALI H. Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal

Ce travail a donné lieu aux résultats suivants :

### *Publications*

**Taoufik El Rasafi**, Mohamed Nouri, Said Bouda, Abdelmajid Haddioui, 2016: The effect of Cd, Zn and Fe on seed germination and early seedling growth of wheat and bean. *Ekológia (Bratislava)*, Vol. 35, No. 3, p. 213–223. DOI: 10.1515/eko-2016-0017

**Taoufik El Rasafi**, Mohamed Nouri, Abdelmajid Haddioui, 2017: Metals in mine wastes: environmental pollution and soil remediation approaches—a review, *Geosystem Engineering*, 1–16. DOI:10.1080/12269328.2017.1400474.

Mohamed Nouri, **Taoufik El Rasafi**, Abdelmajid Haddioui, 2017: Levels of Metals in Soils of Ait Ammar Iron Mine, Morocco: Human Health Risks. *ACTA CHEMICA IASI*, 25\_2, 127-144. DOI: 10.1515/achi-2017-0011.

### *Publications soumises*

**Taoufik El Rasafi**, Ruth Pereira, Gloria Pinto, Fernando Gonçalves, Abdelmajid Haddioui Mohamed Ksibi, Jörg Römbke, José Paulo Sousa and C.R. Marques. Potential of *Eucalyptus globulus* for the phytoremediation of metals in an African mine soil. (Soumis *Geoderma*).

Mohamed Nouri, **Taoufik El Rasafi** and Abdelmajid Haddioui. Response of Garden cress (*Lepidium sativum L.*) seeds to metals toxicity. (Soumis *Ekológia (Bratislava)*).

Mohamed Nouri, **Taoufik El Rasafi** and Abdelmajid Haddioui. Improving seed germination and seedling growth of *Lepidium sativum L.* with different priming methods under arsenic stress (Soumis *Acta Ecologica Sinica*).

### *Communications Orales*

**Taoufik EL RASAFI**, Mohamed NOURI, Abdelmajid HADDIOUI. The response of plant seeds to metal contamination in abandoned Iron mine soil. 6<sup>ème</sup> Congrès international Eau Dechets & Environnement (EDE6) – FST Béni Mellal, Maroc 12-14 Décembre 2017.

**Taoufik EL RASAFI**, Gloria PINTO, Catarina MARQUES, Ruth PEREIRA and Abdelmajid HADDIOUI. The growth response of *Eucalyptus globulus* under heavy metals stress in soil of an old Iron mine site. La deuxième édition du Congrès international: "Substances Naturelles et Développement Durable", Rabat, Maroc, 19-21 Mai, 2016.



**Taoufik EL RASAFI**, Catarina MARQUES, Ruth PEREIRA and Abdelmajid HADDIOUI. Impact of heavy metals (Cd, Fe) on early seedling growth and germination of plants. 1<sup>er</sup> Congrès international Polydisciplinaire: "Les enjeux stratégiques du développement durable intégré en Afrique" 05 et 06 Juin 2015, Béni Mellal - Maroc –

**Taoufik El RASAFI**, Andreas HÄLLER, Abdelmajid HADDIOUI, Catarina MARQUES, Ruth PEREIRA, José Paulo SOUSA, Mohamed KSIBI and Jörg RÖMBKE. The effect of soils from an abandoned iron mine site on *Arthrobacter globiformis* using two natural soils. La 1<sup>ère</sup> édition des Journées Doctoriales: "Recherche scientifique: innovation et développement", Beni Mellal, Maroc, 10 et 11 juin 2014

**Taoufik EL RASAFI**, Abdelmajid HADDIOUI, Andreas HÄLLER, Fernando GONÇALVES, José Paulo SOUSA, Mohamed KSIBI, Ruth PEREIRA and Jörg RÖMBKE. The effect of metals of the soil of the iron mine site of Ait Ammar on the dehydrogenase activity of *Arthrobacter globiformis*. La deuxième édition du Congrès international: "La biotechnologie microbienne au service du développement" (MICROBIOD 2), Marrakech, Maroc, du 02 au 04 octobre 2012.

### *Communications Affichées*

**Taoufik El RASAFI**, Andreas HÄLLER, Abdelmajid HADDIOUI, Fernando GONÇALVES, José Paulo SOUSA, Mohamed KSIBI, Ruth PEREIRA and Jörg RÖMBKE. The inhibition of dehydrogenase activity of soil bacteria - *Arthrobacter globiformis*- in presence of heavy metals in iron mine soil. Workshop National sur la Biotechnologie: la Biotechnologie au Service d'une Agriculture Durable. 26-27 Décembre 2016 à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal.

**Taoufik El RASAFI**, Catarina MARQUES, Ruth PEREIRA and Abdelmajid HADDIOUI. The response of Beans and Tomato under heavy metals stress. 2<sup>ème</sup> édition des Journées Doctoriales: "Sciences et Créativité", Beni Mellal, Maroc, 26 - 28 mars 2015.

**Taoufik El RASAFI**, Lalla Hasnae ZINELABIDINE and Abdelmajid HADDIOUI. Study of the Effect of Cd on Germination and Early Growth of Wheat and Barley. La 1<sup>ère</sup> édition des Journées Doctoriales: "Recherche scientifique: innovation et développement", Béni Mellal, Maroc, 10 et 11 juin 2014

## Résumé

La contamination des sols par les ETM est l'un des problèmes environnementaux les plus importants qui posent un risque majeur à la vie humaine, demandant ainsi des mesures urgentes de réhabilitation appropriées et durables pour réduire leurs impacts. Dans ce cadre, l'objectif de ce travail est de proposer des solutions pour décontaminer le sol de la mine de fer d'Ait Amar (région d'Oued Zem, Maroc). L'étude de la potentialité de l'espèce végétale *Eucalyptus globulus* d'être utilisée comme plante phytoremediatrice et l'utilisation des amendements organiques (biochar et fumiers) dans des cultures de l'orge et du maïs pour renforcer leurs capacités de phytoremediation, ont été testés.

Les résultats montrent que la longueur des tiges, la surface foliaire et la teneur en pigments d'*Eucalyptus globulus* ont été légèrement affectés dans le sol de la mine comparativement aux autres sols (sol de référence et sol témoin). Cette espèce a montré une grande capacité pour accumuler des ETM comme le Fe et le Zn ( $Fe > Zn > Cu > Cr$ ) et les piéger dans son système racinaire. Ce résultat montre bien que cette espèce végétale peut être exploitée dans des programmes de phytoremediation des métaux dans les sols des mines. De même, les résultats obtenus montrent également que l'utilisation des amendements organiques dans le sol contaminé par les ETM a réduit la phytotoxicité du sol de la mine d'Ait Ammar sur l'orge et du maïs. Les biochar et le fumier ont amélioré les valeurs des traits morphologiques et des teneurs en chlorophylle des espèces étudiées par rapport aux plantes cultivées sur le sol de la mine sans amendements. Donc les amendements organiques testés peuvent être utilisés dans la phytoremediation des sites contaminés par les éléments traces métalliques.

**Mots clés:** Mine de Fer, bioremediation, phytoremediation, espèces végétales, amendements organiques.

# Abstract

The contamination problem left by abandoned mines is huge and demands appropriate and sustainable mitigation measures. As such, the aim of the present work was to propose solutions to decontaminate the soil of the iron mine of Ait Amar (region of Oued Zem, Morocco). For that, two studies were carried out: the first concerns the study of the potentiality of the plant species *Eucalyptus globulus* to be used as a phytoremediatrice plant. The second study interested in strengthening phytoremediation through the use of organic amendments (biochar and animal manure).

The results showed that stem length, leaf area and pigment content of *Eucalyptus globulus* were slightly affected in the mine soil compared to other soils (reference soil and control soil). This species has shown a great ability to bioaccumulate ETMs such as Fe and Zn (Fe > Zn > Cu > Cr) and stabilize them in its root system. This result shows that this plant species can be exploited in metal phytoremediation programs in mine soils. Similarly, the results also showed that the use of organic amendments in contaminated soil reduced the phytotoxicity of ETM in the Ait Ammar mine soil on barley and maize. Biochar and manure improved the morphological traits and chlorophyll content of the studied species compared to plants grown on the mine soil without amendments. So the tested organic amendments can be used in the phytoremediation of sites contaminated by metallic trace elements.

**Key words:** Iron mine, bioremediation, phytoremediation, plant species, organic amendments.

## الملخص

إن تلوث تربة المناجم بواسطة المعادن هي واحدة من أهم المشاكل البيئية التي تشكل خطرا كبيرا على حياة الإنسان، مما يتطلب اتخاذ تدابير علاج عاجلة، مناسبة ومستدامة للحد من آثارها. في هذا السياق ، الهدف من هذا العمل هو اقتراح حلول لتطهير التربة من منجم الحديد في آيت عمار (منطقة وادي زم ، المغرب). لذلك تم إجراء دراستين: الأولى تتعلق بدراسة إمكانات النوع النباتي *Eucalyptus globulus* لاستخدامها كنبات معالج للتربة الملوثة و اهتمت الدراسة الثانية باستخدام الأسمدة العضوية (السماد النباتي والفحم النباتي) لتعزيز و تقوية قدرة الشعير والذرة لمقاومة التأثير السلبي للمعادن. أظهرت النتائج أن طول الساق ومساحة الورقة ومحتوى الصبغة (الكلوروفيل) في ورقة الأوكالبتوس قد تأثر بشكل طفيف في تربة المنجم مقارنة بأنواع التربة الأخرى المستعملة. وقد أظهرت هذه الأنواع قدرة كبيرة على تخزين عدد من المعادن مثل الحديد (Fe) و الزنك (Zn) على مستوى الجذور ومنع تنقلها الى الأوراق. تظهر هذه النتيجة أنه يمكن استغلال هذه النوع النباتي في برامج المعالجة النباتية للمعادن في تربة المناجم.

وتظهر النتائج أيضا أن استخدام التعديلات العضوية في التربة الملوثة بالمعادن قلل من السمية النباتية لتربة منجم آيت عمار على الشعير والذرة. نلاحظ أن استعمال الفحم النباتي والسماد قد حسن من الصفات المورفولوجية ومحتوى الكلوروفيل للأنواع النباتية قيد الدراسة مقارنة مع النباتات التي زرعت في التربة الملوثة وحدها. لذلك يمكن استخدام التعديلات العضوية المختبرة في المعالجة النباتية للمواقع الملوثة بواسطة العناصر المعدنية.

**الكلمات المفتاحية:** منجم الحديد ، المعالجة الحيوية ، المعالجة النباتية، الأنواع النباتية ، الاضافات العضوية.

## Abréviations et synonymes

|             |   |   |
|-------------|---|---|
| BAF         | : | Facteur de bioaccumulation  |
| CEC         | : | Capacité d'échange cationique                                       |
| CS          | : | Sol contaminé de la mine  |
| Eh          | : | Potentiel redox   |
| ETM         | : | Éléments traces métalliques   |
| Fv/Fm       | : | Efficacité maximale du photosystème II                              |
| GP          | : | Pourcentage de germination  |
| ICP-MS      | : | Plasma à couplage inductif avec détecteur de spectrométrie de masse |
| MDA         | : | Teneur en malondialdéhyde   |
| MO          | : | Matière organique   |
| P.P         | : | Pourcentage de phytotoxicité  |
| PS          | : | Poids sec   |
| REF         | : | Sol de référence de la mine.  |
| ROS         | : | espèces réactives d'hydrogène                                       |
| RWC         | : | Teneur relative en eau  |
| SMMPC       | : | Société Marocaine des Mines et des Produits Chimiques               |
| T.I         | : | Indice de tolérance   |
| TBA         | : | Acide thiobarbiturique  |
| TCA         | : | Acide trichloroacétique   |
| TF          | : | Facteur de translocation  |
| $\Phi$ PSII | : | Rendement quantique du PSII   |

# Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| <i>Tableau 1: Concentrations de certains métaux dans certaines zones de mines</i> .....  | 14 |
| <i>Tableau 2: Les principales mines du Maroc</i> .....   | 16 |
| <i>Tableau 3: Caractéristiques physico-chimiques du sol contaminé et du sol de référence.</i> .....  | 32 |
| <i>Tableau 4: Les espèces végétales sélectionnées pour cette étude.</i> .....  | 34 |
| <i>Tableau 5: Les caractéristiques physico-chimiques du sol de référence naturel, sol de référence du site d'Ait Ammar, PTRS1 et Lufa 2.2.</i> .....   | 52 |
| <i>Tableau 6 : Les concentrations totales des ETM dans le sol de référence naturel.</i> .....  | 54 |
| <i>Tableau 7: Effets des métaux (Cd, Fe et Zn) sur le taux de germination des graines.</i> .....   | 60 |
| <i>Tableau 8: le pourcentage de germination des graines germées dans le Lufa 2.2 en présence des différentes concentrations du Cd, Fe et Zn.</i> .....   | 68 |
| <i>Tableau 9: : le pourcentage de germination des graines testées dans le Sol de la mine de fer d'Ait Ammar</i> .....  | 73 |
| <i>Tableau 10: Résultats de l'analyse de variance sur les paramètres mesurés</i> .....   | 83 |
| <i>Tableau 11 : Teneur moyenne en métaux (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>) dans les racines et les feuilles d'<i>Eucalyptus globulus</i> exposés aux sols témoins (CTL), de référence (REF) et contaminés (CS).</i> .....                                      | 87 |
| <i>Tableau 12: Facteurs de bioaccumulation d'<i>E. globulus</i> pour les racines (<math>\text{BAF}_{\text{racines}}</math>) et les feuilles (<math>\text{BAF}_{\text{feuilles}}</math>) et facteur de translocation (TF), sous le sol contaminé (CS)</i> ..... | 88 |
| <i>Tableau 13: L'effet des amendements organiques sur le pH et la conductivité électrique du sol.</i> .....  | 96 |

# Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| Figure 1: Potentiel relatif d'absorption et de bioaccumulation des ETM chez les espèces végétales. ...  | 11 |
| Figure 2: Les étapes de la remédiation d'un site contaminé avec des déchets miniers. ....   | 19 |
| Figure 3: Techniques de remédiation des ETM dans les sols contaminés. ....  | 20 |
| Figure 4: Localisation du gisement d'Ait Ammar sur un extrait de la carte du Maroc. ....  | 29 |
| Figure 5: Photo montrant le gisement de fer d'Ait Ammar. ....   | 31 |
| Figure 6: Localisation du point du sol de référence naturel (Sol Naturel) et le point le plus contaminé du site minier (T4.5). ....   | 36 |
| Figure 7: Sélection des plantules d'Eucalyptus globulus et mise en culture dans les différents types de substrats utilisées dans le test. ....  | 39 |
| Figure 8: Les plantes d'Eucalyptus globulus dans des pots arrangés dans des bassines et placées dans la chambre de culture. ....  | 40 |
| Figure 9 : Protocole d'extraction des métaux à partir des racines et des feuilles des plantes. ....   | 44 |
| Figure 10: les amendements utilisés dans ce test: le biochar avant (A) et après (B) broyage et tamisage et les fumiers d'animaux avant (C) et après (D) broyage et tamisage à un tamis de 2 mm. ....                  | 45 |
| Figure 11: Dispositif de culture de l'orge et du maïs dans les différents traitements. ....   | 47 |
| Figure 12: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) de l'orge (A, B et C) et du blé (D, E et F) en présence du Cd, Fe et Zn. ....  | 62 |
| Figure 13: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) du maïs (A, B et C) et du fenugrec (D, E et F) en présence du Cd, du Fe et Zn. ....  | 63 |
| Figure 14: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) du haricot en présence du Cd, du Fe et du Zn. ....   | 64 |
| Figure 15: Effet des trois métaux (Cd, Fe et Zn) sur l'indice de tolérance de l'orge (A), du blé (B), du maïs (C), du fenugrec (D) et du haricot (E). ....  | 66 |
| Figure 16: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) de l'orge (A, B et C) et du maïs (D, E et F) en présence du Cd, du Fe et du Zn. ....   | 71 |
| Figure 17: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) du fenugrec en présence des trois métaux (Cd, Fe et Zn). ....  | 72 |
| Figure 18: Indice de tolérance de l'orge, du maïs et du fenugrec en présence des trois métaux (Cd, Fe et Zn). ....  | 72 |
| Figure 19: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) de l'orge (A), du maïs (B) et du fenugrec (C) cultivées sur le Sol de la mine de fer d'Ait Ammar. ....                                       | 74 |
| Figure 20: Indice de tolérance de l'orge, du maïs et du fenugrec cultivées dans le Sol de la mine de fer d'Ait Ammar. ....  | 75 |
| Figure 21: Valeurs moyennes des tiges (cm) d'E. globulus exposées aux sols témoins (CTL), de référence (REF) et contaminés (CS) après 0 (T0), 15 (T15), 30 (T30), 45 (T45), 60 (T60) et 75 (T75) jours d'essais. .... | 83 |
| Figure 22: Valeurs moyennes de la surface foliaire (cm <sup>2</sup> ) d'E. globulus exposées aux sols témoins (CTL), de référence (REF) et contaminés (CS) après 15 (T15), 45 (T45) et 75 (T75) jours d'essais. ....  | 84 |
| Figure 23: Teneur relative en eau et teneur en MDA des plantes d'E. globulus cultivées sur les trois sols (sol témoins (CTL), sol de référence (REF) et sol contaminés (CS)). ....                                    | 85 |

|  |     |
|--|-----|
| <i>Figure 24: Teneur en Chla, Chlb, Chl(a/b) et Caroténoïde des plantes d'E. globulus cultivées sur les trois sols (sol témoins (CTL), sol de référence (REF) et sol contaminés (CS)).</i>                           | 86  |
| <i>Figure 25: Valeurs moyennes de la Fv/Fm ratio et le rendement quantique (<math>\Phi</math>PSI) d'E. globulus cultivées sur les trois sols (sol témoins (CTL), sol de référence (REF) et sol contaminés (CS)).</i> | 87  |
| <i>Figure 26: Les plantes de l'orge (A) et du maïs (B) après 30 jours de culture dans les différents types de traitements.</i>   | 97  |
| <i>Figure 27: Longueur des racines et des tiges, longueur totale de la plante et le diamètre de la tige de l'orge (A, B et C) et du maïs (D, E et F) en présence des différents traitements.</i>                     | 98  |
| <i>Figure 28: Longueur des feuilles, nombres des feuilles et la surface foliaire de l'orge (A, B et C) et du maïs (C, D et E) en présence des différents traitements.</i>  | 100 |
| <i>Figure 29: Teneur relative en eau et la matière sèche des tiges et des racines de l'orge (A et B) et du maïs (C et D) en présence des différents traitements.</i>   | 102 |
| <i>Figure 30: Teneur en Chlorophylle a, Chlorophylle b, Chlorophylle (a+b) et Caroténoïde des plantes de l'orge et du maïs cultivées en présence des différents traitements.</i>                                     | 104 |



# Table des matières

|  |      |
|--|------|
| Fiche présentative de la thèse.....                                      | V    |
| Résumé.....  | VIII |
| Abstract.....  | IX   |
| الملخص.....  | X    |
| Abréviations et synonymes.....   | XI   |
| Liste des tableaux.....  | XII  |
| Liste des figures.....   | XIII |
| <i>Introduction Générale</i> .....                                       | 1    |
| <b><i>Synthèse Bibliographique</i></b> .....                             | 5    |
| I. Éléments traces métalliques (ETM) :.....                              | 6    |
| I.1. Définition et origine de la contamination des sols par les ETM..... | 6    |
| I.3. Facteurs modifiant la mobilité des ETM.....                         | 7    |
| II. La réponse des plantes aux éléments traces métalliques.....          | 9    |
| II.1 Absorption.....   | 9    |
| II.2 Effets des ETM sur les plantes.....                                 | 9    |
| II.3.1. <i>Classification des plantes des sites contaminés</i> .....     | 10   |
| III. Exploitation des Mines : source de contamination métallique.....    | 12   |
| III.1 Les déchets miniers dans le monde.....                             | 12   |
| III.2 La concentration des ETM dans les sols de mines.....               | 13   |
| III.3 L'exploitation minière au Maroc.....                               | 15   |
| IV. Approches de réhabilitation des sites de mines.....                  | 17   |
| IV.1 Techniques Physico-chimiques.....                                   | 18   |
| IV.2 Méthodes Biologiques.....   | 20   |
| IV.2.1 <i>Bio-remédiation</i> .....                                      | 21   |
| IV.2.2 <i>La phytoremédiation</i> .....                                  | 21   |
| IV.2.3. <i>Le renforcement de la phytoremédiation</i> .....              | 24   |
| IV.2.3.1. <i>Les déchets organiques</i> .....                            | 24   |
| IV.2.3.2. <i>Le charbon végétal</i> .....                                | 24   |
| V. Choix Méthodologique.....   | 25   |

|  |    |
|--|----|
| <b>Matériels et Méthodes</b> .....   | 28 |
| A. Présentation des composants étudiés.....                                | 29 |
| I. Le sol étudié.....  | 29 |
| I.1. Situation géographique du sol étudié .....                            | 29 |
| I.2. Données sur l'exploitation de ce gisement .....                       | 30 |
| I.3. Caractéristiques physico-chimiques du sol du site .....               | 30 |
| II. Le matériel végétal utilisé.....                                       | 32 |
| II.1. L'orge et le blé .....   | 32 |
| II.2. Le maïs.....   | 33 |
| II.3. Le fenugrec .....  | 33 |
| II.4. Le haricot.....  | 33 |
| II.5. L' <i>Eucalyptus globulus</i> .....                                  | 33 |
| B. Mise en place des expérimentations .....                                | 34 |
| I. Analyse physico-chimique du sol de référence naturel. ....              | 34 |
| I.1. Situation géographique .....  | 34 |
| I.2. Prélèvement du sol.....   | 34 |
| I.3. Granulométrie par tamisage.....                                       | 35 |
| I.4. Mesure du pourcentage d'humidité.....                                 | 35 |
| I.5. Mesure du pH et de la conductivité électrique.....                    | 35 |
| I.6. Mesure de la matière organique .....                                  | 35 |
| I.7. Caractérisation minéralogique et dosage des métaux .....              | 36 |
| II. Effets des métaux sur la germination des graines.....                  | 37 |
| II.1. Dispositif de germination .....                                      | 37 |
| II.1.1 Matériel végétal .....  | 37 |
| II.1.2. Les supports utilisés.....   | 37 |
| II.1.3. Préparation de la solution métallique .....                        | 37 |
| II.1.4. Préparation des graines .....                                      | 37 |
| II.2. Déroulement du test.....   | 38 |
| II.3. Mesures effectuées.....  | 38 |
| II.3.1. Taux de germination.....   | 38 |
| II.3.2. Longueur des racines et des tiges.....                             | 38 |
| II.3.3. Indice de tolérance .....  | 38 |
| III. Effets des éléments traces métalliques chez <i>E. globulus</i> . .... | 39 |

|  |    |
|--|----|
| III.1. Matériel végétal .....  | 39 |
| III.2. Mise en culture.....  | 39 |
| III.3. Mesures des paramètres morphologiques et physiologiques des plantes .....                             | 40 |
| III.3.1. La longueur de la plante .....  | 40 |
| III.3.2. Efficacité du photosystème.....   | 40 |
| III.3.3. La surface foliaire:.....   | 41 |
| III.3.4. La teneur relative en eau .....   | 41 |
| III.3.5. La teneur en pigments : chlorophylle a, b et caroténoïde.....                                       | 42 |
| III.3.6. La teneur en Malondialdéhyde .....  | 42 |
| III.3.7. Dosage des ETM dans les plantes. ....   | 43 |
| III.3.8. Facteur de translocation et bioaccumulation.....  | 43 |
| IV. Effets des éléments traces métalliques sur l'orge et le maïs en présence des amendements organiques..... | 45 |
| IV.1. Préparation des sols utilisés.....   | 45 |
| IV.2. Traitement du sol et amendement organique .....  | 45 |
| IV.3. Matériel végétal .....   | 46 |
| IV.4. Conduite de la culture .....   | 46 |
| IV.5. Mesure des paramètres morphologiques et physiologiques des plantes.....                                | 47 |
| IV.5.1. Les paramètres de croissance:.....   | 47 |
| IV.5.2. La surface foliaire .....  | 48 |
| IV.5.3. Le poids frais et sec.....   | 48 |
| IV.5.4. La teneur relative en eau (RWC) .....  | 48 |
| IV.5.5. La teneur en pigments : chlorophylle a, b et caroténoïde .....                                       | 48 |
| V. Analyses statistiques.....  | 49 |

## ***Résultats et Discussion***..... 50

### ***Chapitre 1 : Analyses physico-chimiques des sols étudiés*** .....

|  |    |
|--|----|
| I. Caractérisation physicochimique ..... | 52 |
| II. Caractérisation minéralogique .....  | 52 |
| III. Discussion .....                    | 54 |
| IV. Conclusion .....                     | 55 |

### ***Chapitre 2 : Effet des éléments traces métalliques sur les espèces végétales étudiées.*** . 56

|   |    |
|---|----|
| I. Effet des ETM sur les plantes cultivées en papier filtre. .... | 57 |
| I.1. Le pourcentage de germination des graines .....              | 57 |

|  |           |
|--|-----------|
| I.2. Longueur des racines et des tiges des jeunes plantules.....   | 59        |
| I.3. L'indice de tolérance.....  | 64        |
| II. Effet des ETM sur la germination des graines dans le sol Luffa 2.2. ....   | 67        |
| II.1. Le taux de germination des graines .....   | 67        |
| II.2. La longueur des racines et des tiges.....  | 68        |
| II.3. L'indice de tolérance .....  | 69        |
| III. Effet des ETM sur les plantes cultivées sur le sol d'Ait Ammar.....   | 73        |
| III.1. La germination des graines.....   | 73        |
| III.2. Longueur des racines et des tiges .....   | 73        |
| III.3. Indice de tolérance .....   | 74        |
| IV. Discussion .....   | 75        |
| V. Conclusion .....  | 79        |
| <i>Chapitre 3 : Étude des caractéristiques d'accumulation et de tolérance d'Eucalyptus globulus aux éléments traces métalliques.....</i>               | <i>80</i> |
| I. Les traits morphologiques .....   | 81        |
| I.1. La longueur des plantes .....   | 81        |
| I.2. La surface foliaire .....   | 81        |
| II. Les traits physiologiques.....   | 81        |
| II.1. La teneur relative en eau des feuilles (RWC).....  | 81        |
| II.2. La teneur des pigments.....  | 81        |
| II.2.1. Teneur en chlorophylle a.....  | 82        |
| II.2.2. Teneur en chlorophylle b.....  | 82        |
| II.2.3. Teneur en caroténoïdes .....   | 82        |
| II.3. La teneur en Malondialdéhyde MDA.....  | 84        |
| II.4. L'Efficacité du photosystème .....   | 84        |
| II.5. Teneurs des ETM dans la plante.....  | 85        |
| II.6. Facteur de translocation et bioaccumulation .....  | 88        |
| III. Discussion .....  | 88        |
| IV. Conclusion .....   | 92        |
| <i>Chapitre 4 : Étude de l'effet des amendements organiques sur la croissance de l'orge et du maïs cultivés sur un sol contaminé par des ETM. ....</i> | <i>93</i> |
| I. Mesure du pH et de la conductivité électrique du sol .....  | 94        |
| II. Effet des amendements organiques sur les paramètres de croissance.....   | 95        |
| II.1. Longueur de la racine et de la tige .....  | 95        |

|  |            |
|--|------------|
| II.2. Diamètre de la tige.....                   | 99         |
| II.3. Longueur et Nombre de feuilles.....        | 99         |
| II.4. Surface foliaire.....                      | 101        |
| II.5. Teneur Relative en Eau (RWC).....          | 101        |
| II.6. Matière sèche.....                         | 102        |
| II.7. La teneur des pigments.....                | 103        |
| II.7.1. Teneur en chlorophylle a.....            | 103        |
| II.7.2. Teneur en chlorophylle b.....            | 103        |
| II.7.3. Teneur en chlorophylle totale (a+b)..... | 103        |
| II.7.4. Teneur en caroténoïdes.....              | 104        |
| III. Discussion.....                             | 105        |
| IV. Conclusion.....                              | 106        |
| <i>Conclusion Générale et Perspectives.....</i>  | <i>107</i> |
| <i>Références bibliographiques.....</i>          | <i>111</i> |



# *Introduction Générale*

Le développement de chaque pays est lié à plusieurs secteurs tels que l'industrie, l'agriculture et l'exploitation de la richesse du sol. Avec l'évolution technologique dans le monde, le besoin des ressources naturelles devient de plus en plus important. L'exploitation minière a joué un rôle majeur dans l'existence de l'humanité et a conçu l'extraction de tous les minéraux naturels de la terre (Hartman and Mutmansky 2002; Ezeaku 2012). Si les avantages des exploitations minières étaient nombreux, leurs risques sont également sérieux et souvent mortels. En effet, ces exploitations peuvent entraîner la destruction immédiate de l'écosystème et présenter un impact significatif sur l'environnement et sur la santé publique. De même, ce danger reste présent même après l'arrêt de l'exploitation des sites (Mileusnić *et al.* 2014) à cause de l'énorme quantité de déchets qui se trouvent dans les sites de mines abandonnées dans le monde. Ces déchets sont plus dangereux lorsque ces sites miniers abandonnés ne sont pas réhabilités (Asensio *et al.* 2013; Nagaraju *et al.* 2013; Pan *et al.* 2014). Ces sites constituent une importante source d'éléments traces métalliques (Alloway 2013; Pardo *et al.* 2014; Kwon *et al.* 2016). Le risque de ces éléments est plus grave puisqu'ils persistent dans l'environnement pendant de longues périodes et menacent l'humanité toute entière en polluant l'air, les eaux souterraines et le sol (Gisbert *et al.* 2003; Gratão *et al.* 2005b; El Hamiani *et al.* 2010). Ces éléments traces peuvent se retrouver également dans les organismes végétaux et animaux et entrer dans la chaîne alimentaire par la consommation de ces organismes (Walden 2005; Dinis and Fiùza 2011; Olafisoye *et al.* 2013; Candeias *et al.* 2014; Nelson 2016), ce qui provoque plusieurs maladies telles que les maladies respiratoires, les anomalies morphologiques, les troubles neuro-physiologiques, l'altération génétique des cellules (mutation), la tétratogénèse, la carcinogénèse, le retard mental chez les enfants et les maladies rénales et l'anémie (Abdul-wahab and Marikar 2012; Okoro *et al.* 2012; Laney and Weissman 2014). De même, les ETM peuvent être responsables de la dépression, des maux de tête, d'anxiété et d'une irritabilité dans le comportement des gens exposés aux ETM (Gilani *et al.* 2015). D'autre part, les ETM peuvent affecter les espèces végétales en causant des changements dans les activités physiologiques, biochimiques et métaboliques des plantes (Kabata-pendias and Pendias 2001; Nouri and Haddioui 2016a), ce qui entraîne un effet négatif sur le développement de la partie aérienne et racinaire (Solanki and Dhankhar 2011; Chen *et al.* 2015; Asati *et al.* 2016). En effet, l'exposition des plantes aux métaux peut induire le stress oxydatif par la forte production de radicaux libres (Elleuch *et al.* 2013). Ces dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) (Reactive Oxygen species : ROS) peuvent conduire à la peroxydation des lipides, à la détérioration biologique des macromolécules, au démantèlement des membranes, aux fuites d'ions et au clivage d'ADN (Zitka *et al.* 2013). Plusieurs métaux



comme le Ni, Cu, Zn, Cd, Cr et Pb peuvent induire une chlorose, une nécrose, une inhibition de la croissance des racines et des pousses, une perturbation de la photosynthèse, une réduction de la production de chlorophylle et une perturbation des activités enzymatiques (Laghlimi *et al.* 2015) .

Au Maroc, le secteur minier constitue une composante essentielle de l'économie nationale, grâce à l'existence d'un contexte géologique favorable. L'exploitation de ces mines durant plusieurs décennies a entraîné le rejet de milliers de tonnes de résidus riches en ETM abandonnés à l'air libre. Cependant, la protection de l'environnement n'était pas une préoccupation prioritaire au cours de l'activité de ces mines et même après l'arrêt de l'exploitation. D'où la nécessité de la mise en place d'une approche qui vise la réhabilitation de ces sites pollués à fin de limiter les risques engendrés par les ETM sur l'environnement et la santé de l'Homme.

En effet, il existe plusieurs méthodes de réhabilitation des sols contaminés à savoir le lavage, la vitrification et l'excavation. L'une de ces méthodes est la phytoremediation qui exploite les propriétés de certaines plantes à accumuler de grandes quantités d'ETM (Salt *et al.* 1998; Mench *et al.* 2010). Cette technique ne s'est réellement développée que depuis une vingtaine d'années surtout aux États-Unis et au Canada et elle présente plusieurs avantages : le faible coût par rapport au traitement physico-chimique, son adaptation à des traitements de grandes surfaces et sa compatibilité avec les politiques de préservation de l'environnement. Cependant, la contrainte principale de cette technique réside dans le faible nombre d'espèces tolérantes aux ETM et le manque en connaissance des mécanismes physiologiques et du déterminisme génétique de la tolérance de l'hyper-accumulation des ETM.

Au cours de ce travail de thèse, nous avons choisi d'étudier le sol de la mine de fer d'Ait Amar. Ce site a fait l'objet de nombreuses études. Ces études ont débuté par la détermination des caractéristiques physico-chimiques et de la composition métallique du sol (Nouri *et al.*, 2014), l'analyse de la végétation spontanée (Nouri *et al.*, 2013) et l'effet des ETM sur les bactéries du sol (*Arthrobacter globiformis*) (Marques *et al.*, 2014), sur les enchytréides (*Enchytraeus bigeminus*) et sur les acariens prédateurs (*Hypoaspis aculeifer*) (Madani *et al.*, 2015). D'autres études concernant les risques écologiques, l'évaluation des risques pour la santé humaine et animale ont été également réalisées (Nouri and Haddioui, 2016a, 2016b, 2016c).

Pour continuer ces travaux de recherche menés par l'équipe de notre Laboratoire en partenariat avec le Département de Biologie de l'Université Aveiro au Portugal, nous nous sommes intéressés au cours de ce travail de thèse à l'étude de l'effet des ETM présents dans le sol de la mine de fer d'Ait Ammar sur la germination et la croissance des espèces végétales suivantes: l'orge, le blé, le maïs, le fenugrec et le haricot. De même et afin de chercher des solutions et des méthodes pour réhabiliter ce site de mine, nous avons étudié également les potentialités de l'espèce végétale *Eucalyptus globulus* d'être utilisé comme plante phytoremédiatrice. En fin, une dernière étude a été menée sur l'orge et le maïs en présence du biochar et les déchets organiques (fumiers des animaux) dans le but de renforcer la phytoremediation de ces deux espèces.

La rédaction de cette thèse est organisée en trois principales parties :

✓ Une synthèse bibliographique.

Cette partie présente un aperçu de la contamination des sols par les métaux résultant de l'exploitation des sites miniers et de leurs effets sur la biodiversité et la santé de l'Homme. De même, cette partie comprend également les différentes techniques de dépollution des sols contaminés.

✓ Une partie expérimentale:

Cette partie présente une description détaillée du sol étudié et du matériel biologique utilisé et les différentes méthodes expérimentales et statistiques adoptées.

✓ Les Résultats obtenus:

Les résultats obtenus au cours de ce travail sont organisés en quatre chapitres :

- Dans un premier chapitre, nous présenterons les résultats de la caractérisation physico-chimique des sols étudiés.
- Le deuxième chapitre concernera les résultats issus des tests de germination.
- Dans le troisième chapitre, nous exposerons les résultats obtenus pour l'effet des ETM présents dans le sol de la mine de fer sur la croissance d'*Eucalyptus globulus*.
- Le quatrième chapitre sera consacré aux résultats du test de croissance des deux espèces végétales l'orge et le maïs dans le sol de la mine en présence de différentes concentrations de biochar et de fumiers d'animaux.

✓ Conclusion générale et perspectives de la recherche

Cette dernière partie sera consacrée aux conclusions générales des résultats obtenus et nous présenterons les recommandations ainsi que les perspectives qui découlent de l'ensemble de nos travaux.

*Synthèse*  
*Bibliographique*

## I. Éléments traces métalliques (ETM)

### I.1. Définition et origine de la contamination des sols par les ETM.

La notion de métaux lourds ou oligo-éléments est une notion factuelle, industrielle, principalement empirique, sans définition scientifique ou technique universellement acceptée. Néanmoins, la définition la plus populaire que ces éléments sont généralement des métaux de transitions ayant une densité supérieure à  $5 \text{ g / cm}^3$  (Zitka *et al.* 2013). Actuellement, l'appellation "métaux lourds" n'est plus utilisée et remplacée par «éléments traces métalliques» (ETM) du fait que certains éléments traces sont des métaux, tels que Cd, Cr, Zn, Pb, Cu mais ne sont pas forcément "lourds" tels que le zinc. D'autres éléments dits métalloïdes sont toxiques mais ne sont pas métalliques comme l'arsenic. Ces éléments sont pour la plupart présents dans l'environnement en quantités très faibles. On dit qu'ils sont présents à l'état de traces.

Les ETM sont soit d'origine naturelle (les roches, le sol et l'eau) soit anthropique liée aux pratiques industrielles, minières et agricoles (Purakayastha and Chhonkar, 2010; Laghlimi *et al.*, 2015; El Rasafi *et al.*, 2017). Ils sont regroupés dans des éléments essentiels et non essentiels selon leur rôle dans les activités biologiques (Ali *et al.* 2013). Du fait de ses capacités de rétention élevées, le sol peut accumuler différentes pollutions. L'apport des ETM peut être direct (déchets contaminés mis directement en contact avec le sol) ou indirect (rejets atmosphériques). Une fois dans le sol, les ETM peuvent soit être piégés par la phase solide ou redistribués vers d'autres compartiments environnementaux (eaux superficielles, nappes, les plantes...).

Les éléments essentiels comme Zn, Fe, Cu, Co, Mn, Ni, Cr, Se, Mo sont nécessaires pour les organismes par leurs implications dans plusieurs fonctions physiologiques et biochimiques telles que les fonctions enzymatiques, le transfert des électrons dans la photosynthèse et dans la chaîne respiratoire (Toler *et al.*, 2005; Nagajyoti *et al.*, 2010; Agrawal *et al.*, 2011). Ces éléments sont indispensables en quantités très faibles et l'augmentation de leurs concentrations dans l'environnement peut aboutir à des phénomènes de toxicité. Cependant, les éléments non essentiels comme le Cd, Hg, le Pb n'ont aucun rôle biologique et sont hautement toxiques pour les êtres vivants tels que l'Homme, les animaux, les plantes et les microorganismes (Chhotu and Fulekar 2009). Ces éléments présentent des effets toxiques même à de faibles teneurs pour l'Homme et pour un grand nombre d'espèces végétales et animales.

## I.2. ETM dans le sol : mobilité et biodisponibilité

Il est admis que la mobilité, la biodisponibilité et la toxicité des ETM dépendent de leurs formes chimiques plutôt que de leurs caractéristiques totales. En plus, la toxicité dépend également des facteurs environnementaux.

Dans le sol, les ETM peuvent exister en ions libres ou liés aux particules du sol. Cependant, un métal n'est toxique pour les organismes vivants que s'il est bio-disponible. L'équilibre entre les formes libres et fixées de l'ion et donc sa biodisponibilité, directement lié à sa toxicité, dépend de plusieurs facteurs du sol tels que la capacité d'échange cationique (CEC), le pH, le potentiel redox (Eh), la teneur en phosphate disponible, la matière organique (MO) et les activités biologiques du sol.

La biodisponibilité est définie comme la capacité d'un élément de passer d'un compartiment de sol à un organisme vivant. La meilleure solution pour vérifier la biodisponibilité réelle d'un oligo-élément est de déterminer la concentration du métal dans l'organisme lui-même, par exemple dans le cas des plantes, en étudiant la composition de la végétation qui pousse sur le sol réellement étudié. En général, la quantité d'ETM dans les plantes varie en fonction de plusieurs facteurs tels que : l'espèce, la variété, le stade de développement, les interactions entre les éléments chimiques dans le sol et les organes (tige, racine, feuilles...).

## I.3. Facteurs modifiant la mobilité des ETM

La distribution d'un élément dans les différents compartiments du sol ne reste évidemment pas figée au cours du temps. En effet, avec des vitesses variables, les objets passent d'une forme à l'autre sous l'influence de plusieurs facteurs externes (changement de pH, degré d'aération, température, hydratation, environnement chimique, etc.). En général, plusieurs paramètres régissent le comportement des éléments traces dans les sols, tels que: les propriétés du sol, les propriétés des métaux et les espèces végétales.

Propriétés du sol: Le sol est considéré comme un liant pour les métaux et leur phyto-disponibilité. Cette liaison est directement influencée par les propriétés physico-chimiques du sol qui modifient les activités et les concentrations des métaux (McLaughlin et al. 2000). Plusieurs études ont indiqué que ces propriétés comprennent: la composition granulométrique, la teneur en matière organique, la valeur du pH, la teneur en macro et micronutriments, le potentiel redox et l'activité des microorganismes (Fijałkowski et al. 2012; Romero-Freire et al. 2016). Les particules du sol peuvent chélater certains métaux qui, en présence de niveaux élevés de matière organique, ont une forte capacité à lier les éléments métalliques (Fijałkowski et al., 2012 ; Elekes, 2014). La matière organique du sol est un facteur pertinent

contrôlant la disponibilité des métaux dans le sol (Laghlimi et al. 2015). La présence d'une teneur élevée en matière organique diminue la phytotoxicité des ETM, cette diminution est due par la complexation des MO avec ces éléments ce qui minimise leur absorption par les plantes (Yobouet et al., 2010; Singh and Kalamdhad, 2013; Elekes, 2014; Laghlimi et al., 2015 ; Wiszniewska et al., 2016). D'autre part, le pH du sol peut également influencer la disponibilité des métaux et leur capacité de mouvement par leurs passage des formes stables aux formes disponibles (Elekes 2014). Certains éléments tels que le Cd et le Zn sont sensibles aux changements de pH et un faible pH peut les mobiliser (Wu et al. 2000; Yobouet et al. 2010) et leur mobilité décroît dans l'ordre: Cd > Ni > Zn > Mn > Cu > Pb (Laghlimi et al. 2015). En général, la sorption des métaux dans le sol est faible à des pH inférieur à 5 et augmente lorsque le pH du sol est élevé (Mclaughlin et al. 2000). Les microorganismes du sol jouent un rôle majeur dans la modification de la spéciation des métaux par leur capacité à affecter et / ou à médier les processus de mobilisation ou d'immobilisation de ces éléments (Gadd, 2004; El Aafi et al., 2015; Wiszniewska et al., 2016). D'autre part, la présence de certains micronutriments tels que le Fe et le Mn et leur oxydation et réduction biologiques peuvent régir la solubilité, et donc la biodisponibilité de ces métaux dans les sols (Kabata-pendias and Pendias 2001).

Les propriétés des métaux: la forme spécifique des métaux conditionne leur disponibilité et influence fortement leur mobilité (Wu et al., 2000; Romić, 2012; Laghlimi et al., 2015). Dans le sol, la liaison des cations métalliques aux minéraux argileux augmentait avec leur valence, leur poids atomique et leur potentiel ionique et s'organisait en une série de  $Cu^{2+} > Cd^{2+} > Fe^{2+} > Pb^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Zn^{2+}$  (Fijałkowski et al. 2012).

Espèces végétales: la phytodisponibilité des métaux peut être influencée par les plantes, en particulier par les racines (Laghlimi et al. 2015). Les exsudats racinaires (enzymes, acides organiques, acides aminés...) peuvent augmenter la solubilité des minéraux et modifier la spéciation des métaux dans la solution du sol (Mclaughlin et al., 2000 ; El Aafi et al., 2015; Laghlimi et al., 2015). Le système racinaire influence l'activité microbienne du sol, ce qui entraîne la modification de la spéciation et de la biodisponibilité des métaux (Angélica et al. 2016). En général, l'accumulation et la disponibilité des métaux pour les plantes sont liées aux espèces et au stade de croissance (Nouri et al., 2009 ; Laghlimi et al., 2015).

## II. La réponse des plantes aux éléments traces métalliques

### II.1 Absorption

Le passage des ETM du sol aux plantes se fait de façon naturel à travers les racines (McLaughlin et al. 2000). Les plantes peuvent absorber des éléments essentiels avec des éléments non essentiels soit sous formes ioniques ou complexées. L'Huillier (1994) a rapporté que la forme libre est plus absorbée que la forme complexée. Généralement, cette absorption varie en fonction des espèces végétales, du degré de pollution et de la forme des éléments traces (Kabata-Pendias, 2004; Peralta-Videa et al., 2009; Zitka et al., 2013 ; Jan and Parray, 2016). D'autres chercheurs ont rapporté que l'absorption du métal varie également en fonction du métal absorbé et sa concentration dans le sol ainsi que les caractéristiques du sol (pH, conductivité électrique, salinité, matière organique, capacité d'échange cationique) et sa forme ioniques (libre ou complexée) (Kabata-Pendias, 2004; Appenroth, 2010; Olowoyo et al., 2013; Roy and McDonald, 2013; Sherameti and Varma, 2015; Rehman et al., 2017).

Concernant le Cd et le Zn, ces deux éléments ont des caractéristiques chimiques similaires et peuvent être adsorbé par les plantes sous la forme bivalente ( $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ) (Fontes et al. 2014; Gupta et al. 2016). En effet, le Cd est retenu par le sol de la même façon que le  $Fe^{2+}$ , le  $Mn^{2+}$ , le  $Zn^{2+}$  et le  $Cu^{2+}$  (Agbenin and Olojo 2004; Fontes et al. 2014). De même, le Fe est absorbé sous la forme cationique ( $Fe^{2+}$ ) tout en dépendant de la capacité de la plante à réduire la forme trivalente du Fer ( $Fe^{3+}$ ) à la forme bivalente ( $Fe^{2+}$ ) (Graham and Stangoulis 2003; Kim and Guerinot 2007).

### II.2 Effets des ETM sur les plantes

Dans les zones minières, les déchets les plus importants sont le cyanure, le drainage minier acide et surtout les éléments traces métalliques. Ces éléments sont non biodégradables et peuvent persister dans l'environnement, générant un danger pour les plantes à cause de leurs sensibilités aux changements environnementaux (Solanki and Dhankhar, 2011; Bhargava et al., 2012; Ali et al., 2013 ; Yildirim and Sasmaz, 2016). A cause de cette sensibilité, les ETM ont un effet négatif sur le cycle de vie des plantes et surtout pendant la germination des graines et les premiers stades de développement (Athar and Masood, 2002; Weiqiang et al., 2005). De même, les ETM affectent négativement la plante au cours de sa croissance en changeant leurs activités physiologiques, biochimiques et métaboliques aboutissent finalement à sa mort (Solanki and Dhankhar, 2011; Chibuike and Obiora, 2014; Chen et al., 2015; Asati et al., 2016).

Les ETM essentiels ou oligo-éléments comme le Fer (Fe) et le Zinc (Zn) qui sont indispensables au processus biologiques des organismes, leurs toxicités apparaît lorsque leurs concentrations dans les organismes dépassent les besoins métaboliques de ces derniers. Même que le Fe et le Zn sont des éléments essentiels pour la croissance des plantes et sont impliqués dans plusieurs processus tel que la photosynthèse, l'augmentation de leurs concentrations dans la plante diminue le pourcentage de germination des graines, la longueur des racines et des tiges, la surface des feuilles ainsi que la teneur en pigments photosynthétiques (Chlorophylle a et Chlorophylle b) (Vassilev et al., 2011; Mirshekali et al., 2012; Al Khateeb and Al-qwasemeh, 2014; Lalelou and Fateh, 2014 ; Asati et al., 2016). Cependant, les ETM non essentiels comme le Cd, provoquent la réduction de la germination de plusieurs espèces végétales même à des concentrations faibles : *Arabidopsis thaliana* (Li et al. 2005), *Helianthus annuus* (Jadia and Fulekar 2008), *Trigonella foenum-graecum* (Chaâbene et al. 2015), *Trifolium arvense* (Bae et al. 2016), *Triticum aestivum* et *Phaseolus vulgaris* (El Rasafi et al. 2016). De même, elles inhibent la longueur des racines chez *Z. mays* à des niveaux supérieurs à  $10^{-4}$ M (Wang et al. 2007), chez *Triticum aestivum* et *Phaseolus vulgaris* à des concentrations supérieures à 500 mg/L (El Rasafi et al. 2016), *Thespesia populneoides*, *Leucaena leucocephala* et *Delonix regia* à 125ppm (Sarwat et al. 2013).

D'autre part, il a été rapporté que les ETM peuvent provoquer le stress oxydatif par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont nocives pour les plantes (Habiba et al., 2014; Amna et al., 2015; Giarratano et al., 2016; Ritesh et al., 2016). Ces ROS produites peuvent conduire à la peroxydation des lipides, à la détérioration des macromolécules biologiques, au démantèlement des membranes, aux fuites d'ions et au clivage des brins d'ADN (Zitka et al. 2013b). Généralement, les éléments tels que Ni, Cu, Zn Cd, Cr et Pb peuvent induire une perturbation de la photosynthèse (réduction de la production des chlorophylles et des activités enzymatiques) (Laghlimi et al. 2015) et une inhibition de la croissance des racines et des tiges.

## II.3 Adaptation et tolérance des plantes aux ETM

### II.3.1. Classification des plantes des sites contaminés

Plusieurs espèces végétales ont la capacité de se développer dans différents sites contaminés. Baker et al. (2010) et Kushwaha et al. (2016) ont définis la tolérance des plantes par leurs habilités à survivre dans un sol toxique. En général, les plantes sont classées en deux grands groupes. Les plantes dites métallophytes qui se développent dans des sites contaminés où les



conditions sont extrêmes à savoir une concentration élevée d'ETM, une acidité élevée du sol ou une déficience de nutriments (Sheoran et al. 2013). Ces espèces sont généralement endémiques de ces sites et nommées métalphytes strictes (absolues). Le deuxième groupe contient les plantes pseudo-métalphytes (facultatifs) qui peuvent se développer aussi bien dans des sols métallifères que dans des sols non pollués (Baker et al. 2010; Baumbach 2012; Sheoran et al. 2013).

Selon Baker and Brooks (1989); Adriano (2001) et Jan and Parry (2016), les métalphytes sont classées en trois catégories (figure 1) :

- Plantes exclueuses : regroupent la majorité des espèces végétales qui peuvent limiter l'entrée et le transport des ETM et prélèvent de faibles doses même quand le sol est fortement contaminé ;
- Plantes indicatrices : qui ont la capacité d'accumuler les ETM dans leurs parties aériennes en relation avec la proportion des ETM présents dans le sol ;
- Plantes accumulatrice : qui peuvent accumuler des concentrations élevées des ETM dans leurs tissus et cela à des concentrations supérieures à celles présentes dans le sol.

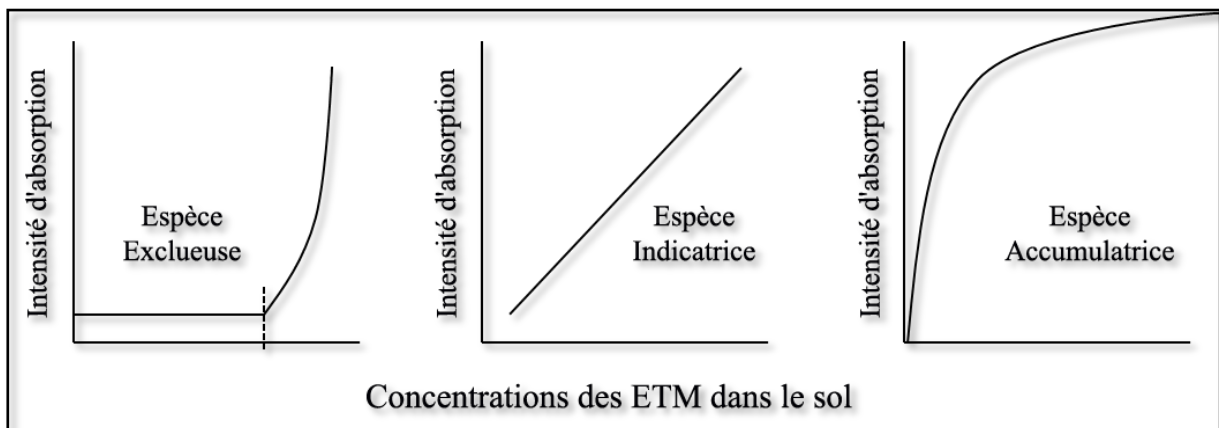


Figure 1: Potentiel relatif d'absorption et de bioaccumulation des ETM chez les espèces végétales. (Adriano 2001).

### II.3.2. Mécanismes de tolérances aux ETM

Vis-à-vis aux contaminations métalliques, les plantes peuvent développer des mécanismes morphologiques, physiologiques et moléculaires pour faire face aux ETM. Ces mécanismes permettent de minimiser l'absorption de ces éléments et/ou leurs effets après pénétration à l'intérieur de la plante. La racine est la première partie de la plante qui entre en contact direct avec les ETM, et où se fait la première étape de détoxification (Singh et al. 2015). En premier lieu, les plantes utilisent plusieurs stratégies pour stopper ou bien diminuer l'absorption des ETM, par leur immobilisation aux membranes cellulaires ou bien en inhibant leurs transport à

de longues distances (Hasan et al. 2017). Mais le mécanisme le plus commun chez les plantes pour lutter contre la toxicité des ETM est l'exclusion par échappement ou évitement (Briat and Lebrun 1999). Au début du stress métallique et de façon naturelle, les plantes sécrètent des agents de chélation naturels capables de fixer les métaux et métalloïdes (Angélica et al., 2016; Rizwan et al., 2016b ; Hasan et al., 2017). Ces agents de chélation (phytochélatines et métallothionéines) sont composés de polypeptides synthétisés enzymatiquement à partir du glutathion, possédant ainsi une forte affinité aux ions métalliques. Le mécanisme de détoxification des ETM chez les plantes n'est pas limité à la chélation, mais aussi à l'accumulation et la stabilisation des ETM en formant un complexe avec les phytochélatines qui va être transporté du cytosol vers la vacuole où il va être emprisonné (Briat and Lebrun, 1999; Yadav, 2010; Lux et al., 2011 ; Kushwaha et al., 2016). Cette séquestration dans la vacuole va diminuer leurs concentrations et réduit par suite leur phytotoxicité (Schützendübel and Polle 2002). Les plantes peuvent aussi transformer les ions métalliques en une forme volatile, comme elles peuvent assurer le fonctionnement adéquat des voies métaboliques et faciliter la réparation rapide des structures cellulaires endommagées par l'activation et la modification de leur métabolisme toxique (John et al. 2009; Laghlimi et al. 2015; Pajević et al. 2016).

### III. Exploitation des Mines : source de contamination métallique

#### III.1 Les déchets miniers dans le monde

Les activités minières dans le monde ont commencé avec le début de la civilisation, par l'utilisation des pierres et des métaux. L'exploitation minière a joué un rôle majeur dans le développement de l'humanité (Ezeaku 2012). La technique d'exploitation est faite par deux méthodes : exploitation minière de surface et exploitation minière souterraine. Le choix de la méthode est lié à la nature du gisement, la sécurité, la technologie et les préoccupations environnementales et économiques (Hartman and Mutmansky 2002).

L'extraction de surface est la technique d'extraction la plus courante mais aussi la plus génératrice de déchets (Hartman and Mutmansky 2002). Ces déchets miniers sont considérés comme l'une des principales causes de problèmes environnementaux dans le monde (Nagaraju et al. 2013; Pan et al. 2014). En effet, des millions de sites sont potentiellement contaminés et produisent des milliards de tonnes de déchets de mines dans le monde (Mendez et al., 2008; Lottermoser, 2010; Yabe et al., 2010; Perez, 2012; Ochonogor and Harrison, 2014; Xiao et al., 2017).

### III.2 La concentration des ETM dans les sols de mines

La pollution du sol dans les zones des sites miniers est induite par l'extraction de déchets produits pendant toutes les étapes des opérations minières (Gutiérrez et al. 2016). Ces déchets solides, liquides et les émissions atmosphériques sous forme de poussière constituent une source majeure des ETM. Afin de réduire cette contamination et minimiser les risques pour l'environnement, l'attention s'est portée de plus en plus sur l'étude de ces sites contaminés pour caractériser la composition et les concentrations des ETM présents dans le sol. De nombreuses études ont été réalisées sur les mines abandonnées dans différentes zones du monde. Plusieurs éléments tels que le Cd, Mn, Cu, Pb, Zn, As, Cr, Ni, Th, U, Ag et P ont été trouvés en concentrations élevées dans des sites d'extraction du Fer, Zinc-Plomb, Cuivre, Uranium, Argent et Manganèse (Asensio et al., 2013; Nematian and Kazemeini, 2013; Agnieszka et al., 2014; Monterroso et al., 2014; Nouri et al., 2014; Gutiérrez et al., 2016; Neiva et al., 2016a; Obiora et al., 2016; Wan et al., 2016; Christou et al., 2017; Fernández et al., 2017; Xiao et al., 2017) (Tableau 1). Dans une zone semi-aride en Iran, des teneurs élevées en Fe (46600,1 mg/kg), Cu (1011,175 mg/kg), Zn (423,114 mg/kg) et Pb (272,052 mg/kg) ont été trouvés dans le sol d'une mine de fer (Maleki et al. 2013; Nematian and Kazemeini 2013). Stefanowicz et al., (2016) ont trouvé que la quantité du Zn (42496 mg / kg), le Pb (23006 mg / kg) et le Cd (337 mg / kg) dans une exploitation minière historique de Zinc-Plomb en Pologne étaient beaucoup plus élevées que celles rencontrées dans les sols non pollués (476 mg Zn / kg, 67 mg Pb / kg et 5 mg Cd / kg). Des niveaux élevés de ces éléments ont également été trouvés dans la mine Jebel Ressas en Tunisie (42400 mg Zn / kg, 14500 mg Pb / kg et 184 mg Cd / kg) (Boughattas et al. 2016).

D'autre part, le niveau de contamination des métaux peut varier d'un site à l'autre en fonction du métal extrait et peut être lié au climat (pluviométrie, vent..) et à la géologie de la zone du site. En effet, les conditions topographiques peuvent avoir une influence sur les teneurs en métaux du sol en modifiant l'accumulation de matière organique et de contenu en argile en raison de la redistribution et de l'accumulation d'eau et de l'altération minérale (Li et al. 2005). Avila et al. (2012) ont conclu que la distribution des métaux dans la zone de la mine pourrait être liée aux effets de la météorisation et à la topographie de la zone.

Tableau 1: Concentrations de certains métaux dans certaines zones de mines

| Sites miniers  | Élément | Contamination Majeur de Métaux (mg/Kg) |          | Climat                             | Roches   | Référence(s)                                      |
|--|---------|--|----------|------------------------------------|--|---|
| Ait Ammar, Oued Zem, Maroc                             | Fe      | Fe                                     | 435490   | Méditerranéen, aride à semi-aride  | Fe oolitique, chlorotique schiste noir                       | (Nouri et al. 2014; Nouri and Haddioui 2016a)     |
|  |         | Cd                                     | 20,399   |                                    |  |   |
|  |         | Cr                                     | 222,162  |                                    |  |   |
|  |         | P                                      | 9200     |                                    |  |   |
|  |         | Zn                                     | 153,3    |                                    |  |   |
| Galaly, Hamedan, Iran                                  | Fe      | Fe                                     | 46600,1  | Semi-aride                         | Roches Volcanique, sédimentaire                              | (Maleki et al. 2013; Nematian and Kazemeini 2013) |
|  |         | Cu                                     | 1011,175 |                                    |  |   |
|  |         | Zn                                     | 423,114  |                                    |  |   |
|  |         | Pb                                     | 272,052  |                                    |  |   |
| Mine de Limni, Chypre                                  | Cu      | Cu                                     | 9653     | Méditerranéen                      | Roches Volcanique, sédimentaire                              | (Christou et al. 2017)                            |
|  |         | Zn                                     | 1081     |                                    |  |   |
|  |         | Ni                                     | 118,16   |                                    |  |   |
|  |         | Pb                                     | 20,35    |                                    |  |   |
|  |         | Cd                                     | 2,12     |                                    |  |   |
| Touro, Galice, Espagne                                 | Cu      | Cu                                     | 1921     | Atlantique (océanique)             | Roche type Amphibolite-                                      | (Asensio et al. 2013; Civeira et al. 2016)        |
|  |         | Cr                                     | 194      |                                    |  |   |
|  |         | Ni                                     | 128      |                                    |  |   |
|  |         | Pb                                     | 97,1     |                                    |  |   |
|  |         | Zn                                     | 538      |                                    |  |   |
| Jebel Ressas, Tunisie                                  | Zn - Pb | Zn                                     | 42400    | Méditerranéen, semi-aride          | Mésozoïque et Cénozoïque roches sédimentaire                 | (Ghorbel 2012; Boughattas et al. 2016)            |
|  |         | Pb                                     | 14500    |                                    |  |   |
|  |         | Cd                                     | 184      |                                    |  |   |
|  |         | Mn                                     | 413      |                                    |  |   |
| Rubiais, province de Lugo, Espagne                     | Zn - Pb | Zn                                     | 5400     | Atlantic (océanique)               | Calcaire bleu, ardoise verte et quartzite mineure, dolomites | (Monterroso et al. 2014)                          |
|  |         | Pb                                     | 3690     |                                    |  |   |
|  |         | Mn                                     | 1330     |                                    |  |   |
|  |         | Cu                                     | 288      |                                    |  |   |
|  |         | Cd                                     | 13,5     |                                    |  |   |
| Gumuskoj, Kutahya, Turquie                             | Ag      | As                                     | 14662    | Climat continental et doux         | Roches sédimentaires volcaniques et métamorphiques           | (Yildirim and Sasmaz 2016)                        |
|  |         | Ag                                     | 127      |                                    |  |   |
|  |         | Pb                                     | 13556    |                                    |  |   |
| Senhora das Fontes, centre du Portugal                 | U       | U                                      | 94,6     | Climat méditerranéen et atlantique | Orthogneisses, granit, roches schisteuses                    | (Neiva et al., 2016b)                             |
|  |         | As                                     | 374      |                                    |  |   |
|  |         | Zn                                     | 160      |                                    |  |   |
|  |         | Th                                     | 228      |                                    |  |   |
|  |         | Mn                                     | 2080     |                                    |  |   |
| La mine de Rongxi, Chongqing, au sud-ouest de la Chine | Mn      | Mn                                     | 120566   | Climat subtropical humide          | Roches sédimentaires, dolomitiques, schisteuses              | (Hao and Jiang 2015; Wu et al. 2016)              |
|  |         | Cd                                     | 6,82     |                                    |  |   |
|  |         | Cu                                     | 138,43   |                                    |  |   |
|  |         | Pb                                     | 126,55   |                                    |  |   |
|  |         | Zn                                     | 398,55   |                                    |  |   |

### III.3 L'exploitation minière au Maroc

L'activité minière est l'un des piliers de l'économie de plusieurs pays dans le monde y compris le Maroc où ce secteur a connu une évolution croissante au cours du dernier siècle (Michard et al., 2011). Le Maroc est riche en ressources naturelles et contient énormément de sites miniers tels que : le phosphate (94 % des extractions minières), le charbon, l'argent, l'or, le zinc, le cuivre, le cobalt, la manganèse, l'antimoine, le fer, la barytine, la fluorine, le gypse, l'argile, la pyrophyllite, le ghassoul, le feldspath, la bentonite, la calcite et le talc (Michard et al., 2011; Meuzard and Monvoisin, 2014) (Tableau 2). Ces sites sont dispersés dans tout le territoire marocain, mais concentrés dans la région de Marrakech, Ouarzazate et au nord de l'Anti-Atlas (El Hamiani et al. 2010). Actuellement, environ 240 sites de mine sont présents au Maroc et qui produisent des milliers de tonnes par jour. En plus, on trouve également à peu près 200 sites abandonnés après épuisements de minerais en laissant des carrières ouvertes et des quantités énormes de déchets miniers, de rejets de laverie et de résidus métalliques (EL Founti et al. 2003; Khalil et al. 2014). A titre d'exemple, Boularbah et al. (2006) ont rapporté qu'entre 0,8 à 1,6 ha des terres situées à 100 m d'une mine polymétallique au sud du Maroc sont occupés par des déchets. De même, l'exploitation de l'ancienne mine de kettara a produit plus de 4 millions de tonnes de déchets entre 1932 et 1981, et stockés sur une superficie d'environ 30 ha (Khalil et al. 2013).

Vue les problèmes environnementaux liés à l'exploitation de ces mines, le Maroc et depuis 1993 a adopté des lois ayant pour objectif la protection de l'environnement à savoir la loi N°11-03 relative à la protection et à la mise en valeur de l'environnement, la loi N° 12-03 relative aux études d'impact sur l'environnement, la loi N° 13-03 relative à la lutte contre la pollution de l'air, et la loi sur l'eau et création d'Agences de bassins hydrauliques (Benkhadra and EL Abbaoui 2006).

Tableau 2: Les principales mines du Maroc.  
D'après Michard et al., 2011.

| La zone   | Sites miniers  | Éléments  |
|---|--|---|
| Anti-Atlas oriental                               | La mine de Touroug-El Hamda (Ougnat septentrional)             | Fluorine  |
|   | Le gisement de Bou-Madine (Massif de l'Ougnat)                 | polymétallique                                  |
|   | Le fer oolithique d'Imi n'Tourza au sud du J. Saghro           | Fe  |
|   | La mine d'Imiter   | Ag  |
|   | Le gisement de Tiouit (Massif néoprotérozoïque du J. Saghro)   | Au-Cu-Ag  |
|   | La mine de Bouskour (J. Saghro)                                | Cu-Ag   |
|   | La mine de Bou Nahas (Ordovicien supérieur du Maider)          | Cu  |
| Anti-Atlas central                                | La mine d'Imini (dans les couches du Crétacé)                  | manganèse                                       |
|   | Le gîte de Zgounder (Massif du Siroua)                         | Ag  |
|   | La mine de Nqob (Massif du Siroua)                             | talc  |
|   | Le district de Bou Azzer                                       | Co-Ni-As  |
|   | Les gisements de de Bou Azzer                                  | chromite et platinoïdes associés aux ophiolites |
|   | Le district de Bleïda (boutonnière de Bou Azzer-El Graara)     | Cu  |
| Anti-Atlas occidental                             | Le fer oolithique du Jbel Tachilla                             | Fe  |
|   | La mine de Tazalarht   | Cu  |
|   | La mine d'Agjgal (sud du Kerdous)                              | Cu-Ag   |
|   | Les filons aurifères d'Iourirn (Tagragra d'Akka)               | Au  |
|   | Le gîte d'Azougar n'Tilili, (Cambrien du Bas-Draa)             | polymétallique                                  |
| Les Provinces du Sud                              | Les marnes bitumineuses de Tarfaya                             | marnes bitumineuses                             |
|   | La mine de Boukra (Province de Laayoune)                       | P   |
|   | La mine Aghracha, (Province de Dakhla)                         | Fe-U et terres rares                            |
|   | Le gisement de Glibat Lafhouda (Province d'Awsred)             | Nb-Ta-Fe-U et terres rares                      |
|   | Le prospect aurifère de Lafwila-Ouday Çfa (Province de Dakhla) | U   |
| La Meseta méridionale et du Haut Atlas occidental | Les phosphates des Ganntour à Benguerir et Youssoufia          | P   |
|   | Le gisement du Jbel Irhoud (Jebilet occidentales)              | barytine  |
|   | L'ancienne mine de Kettara (Jebilet centrales)                 | pyrrhotite                                      |
|   | Le gisement de Roc Blanc (Jebilet centrales)                   | Ag  |
|   | Le gisement de Draa Sfar (Jebilet centrales)                   | polymétallique VMS                              |
|   | Le gisement de Hajjar (province à pyrrhotite sud-mésétienne)   | polymétallique                                  |
|   | Azegour, gîte métasomatique (Haut Atlas occidental)            | Cu, Mo, W                                       |
|   | Le gisement d'Ifri N'Jenjar (Seksaoua, Haut Atlas occidental)  | Cu  |

Tableau 2 (suite) : Les principales mines du Maroc

| La zone   | Sites miniers  | Éléments                                |
|---|--|---|
| Plateau Central<br>et du Massif<br>Central                        | Le district phosphatier de Khouribga                         | P                                       |
|   | Les gîtes d'El Hammam et Achmmach (Massif Central)           | fluorine et cassitérite                 |
|   | Les filons d'El Karit (granite d'Oulmès, Massif Central)     | cassitérite-béryl                       |
|   | Le district de Tighza-Jbel Aouam (Massif central)            | polymétallique                          |
|   | Le gîte de Zrahina, (Massif hercynien central)               | fluorine et sulfures<br>polymétalliques |
|   | Le fer oolithique métamorphique d'Aït Ammar (Massif Central) | Fe                                      |
| Haut Atlas<br>central/ Haute<br>Moulouya / Haut<br>Atlas oriental | Le Couches Rouges de Tansrift (Atlas d'Azilal)               | Cu                                      |
|   | La mine d'Ali-ou-Daoud (Imilchil, Haut Atlas central)        | Zn                                      |
|   | La mine d'Aguerd n'Tazoult, (Haut Atlas central)             | Zn-Pb                                   |
|   | Le district de la Haute Moulouya (Aouli-Mibladen, Zeïda)     | Pb                                      |
|   | La mine de Bou-Arfa (Haut Atlas oriental)                    | manganèse                               |
|   | Le Jbel Bou Dahar, district MVT du Haut Atlas oriental       |   |
|   | Le gisement de Tamlelt-Menhouhou (Haut Atlas oriental)       | Au                                      |
| Moyen Atlas et<br>de la Chaîne des<br>Horsts                      | Le district de Touissit-Bou Beker, (Maroc oriental)          | Pb-Zn                                   |
|   | Le bassin de Jerada (Chaîne des Horsts, Maroc oriental)      | Houiller (coal)                         |
|   | La mine du Tazekka (Moyen Atlas)                             | antimoine                               |
|   | La mine de Timahdite (Moyen Atlas)                           | schistes bitumineux                     |
|   | Le district de Fnideq-Beni Mezala (Rif septentrional)        | antimoine                               |
| Rif   | Les mines des Beni Bou Ifrou-Ouixane (Rif Oriental)          | Fe                                      |
|   | La mine de la région de Nador (Rif oriental)                 | Bentonite et perlite                    |

#### IV. Approches de réhabilitation des sites de mines

Il existe plusieurs méthodes de réhabilitation des sols contaminés (physiques, chimiques, physico-chimiques, thermiques et biologiques). La figure 2 résume les étapes de remédiation des sites contaminés par les déchets miniers. Généralement, pour atteindre ce but et assainir les sols, deux types de méthodes peuvent être utilisés : ex-situ et in-situ (Barceló and Poschenrieder 2003; Ghori et al. 2015). Les traitements ex-situ nécessitent le transport du sol pollué vers un autre lieu où il serait traité. Cependant, les traitements in-situ permettent de dégrader ou de fixer les polluants dans le site concerné.

Les méthodes les plus utilisées pour l'élimination des ETM des déchets miniers sont présentées dans la figure 3. Kabata-pendias et Mukherjee (2007) rapportent que l'utilisation de l'une ou l'autre de ces méthodes repose sur plusieurs paramètres tels que la nature des contaminants, le type de sol et les caractéristiques géologiques et hydrologiques du site contaminé. La méthode choisie devra être en mesure de traiter la source de pollution, de maîtriser les impacts et de protéger les cibles exposées (Colombano et al. 2010).

#### IV.1 Techniques Physico-chimiques

Les procédés physiques visent à séparer les polluants du sol ou de les concentrer dans le sol en exploitant les propriétés physiques du milieu et celles des polluants. L'approche chimique est basée sur l'extraction ou l'immobilisation des polluants dans les sols en utilisant des produits chimiques tels que la chaux, le phosphate et le carbonate de calcium (Jadia and Fulekar 2009). D'autres techniques peuvent être utilisées à savoir la vitrification, le remplacement ou l'isolement du sol. Cette approche a été rapportée par plusieurs auteurs (Kabata-pendias and Pendias, 2001; Barceló and Poschenrieder, 2003; Kabata-pendias and Mukherjee, 2007; Geets et al., 2008; Agrawal et al., 2011; Su et al., 2014; Parmar and Singh, 2015; Khalid et al., 2016). Elle comprend plusieurs techniques telles que :

- ✓ Lixiviation / lavage / rinçage des sols: utilisation d'eau ou d'une substance tensioactive
- ✓ Vitrification: courant électrique utilisé pour immobiliser les polluants
- ✓ Solidification / stabilisation / immobilisation: l'utilisation de matériaux à forte capacité de liaison avec les métaux comme amendements du sol.
- ✓ Électro-cinétique: basée sur l'utilisation de la tension continue pour former le gradient de champ électrique en utilisant une anode et une cathode des deux côtés du réservoir électrolytique qui contient le sol contaminé
- ✓ Extravagation: couvrir le sol de la mine avec des sols non contaminés provenant de l'extérieur du site
- ✓ Excavation: transport de la couche supérieure des sols contaminés vers une zone non contaminée

Cependant, ces techniques sont très coûteuses et ont des impacts non négligeables sur l'environnement. C'est pourquoi le développement de technologie alternative dite "verte" a récemment vu le jour pour la réhabilitation des sites contaminés.



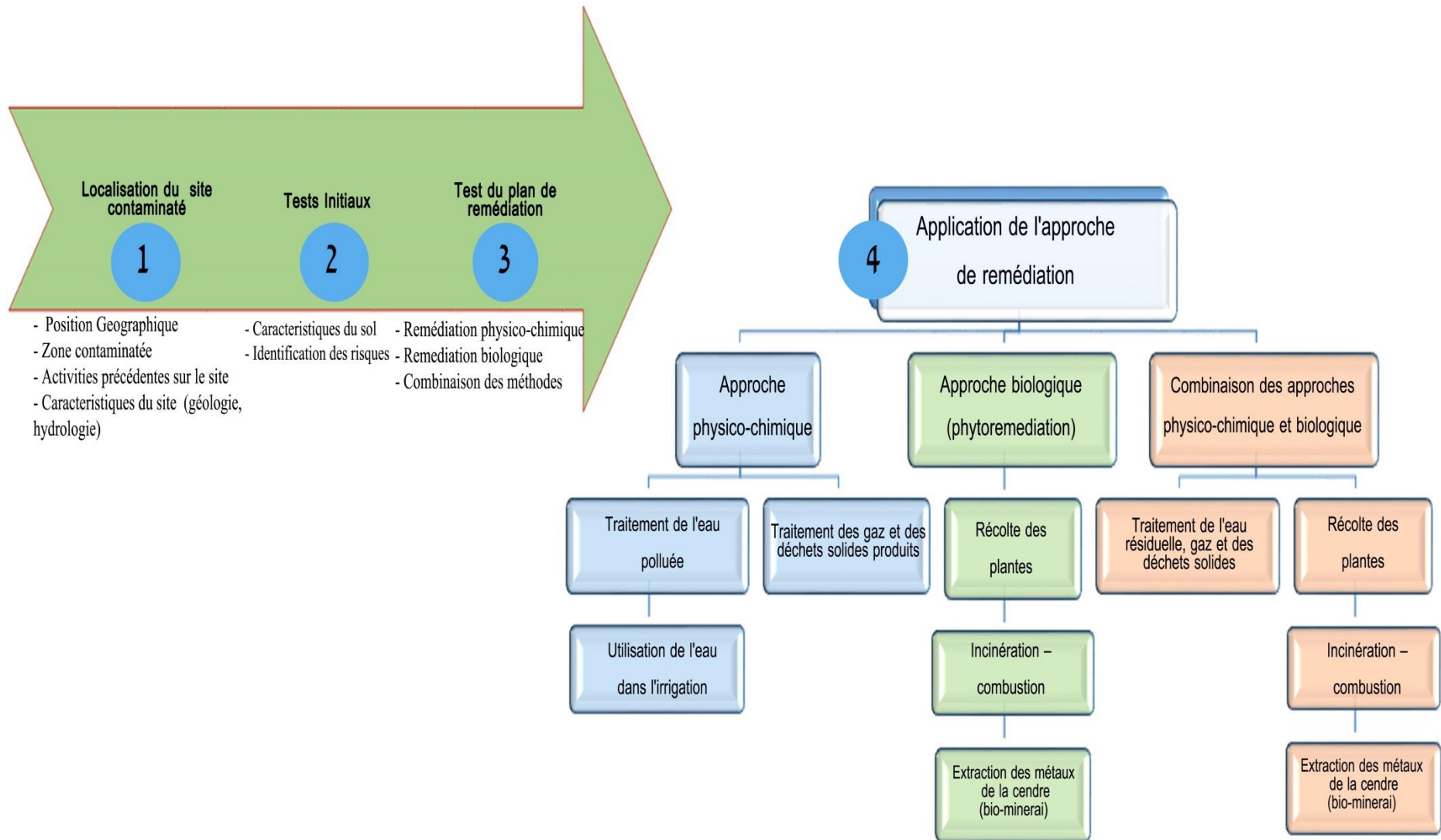


Figure 2: Les étapes de la remédiation d'un site contaminé avec des déchets miniers. (El Rasafi et al., 2017).

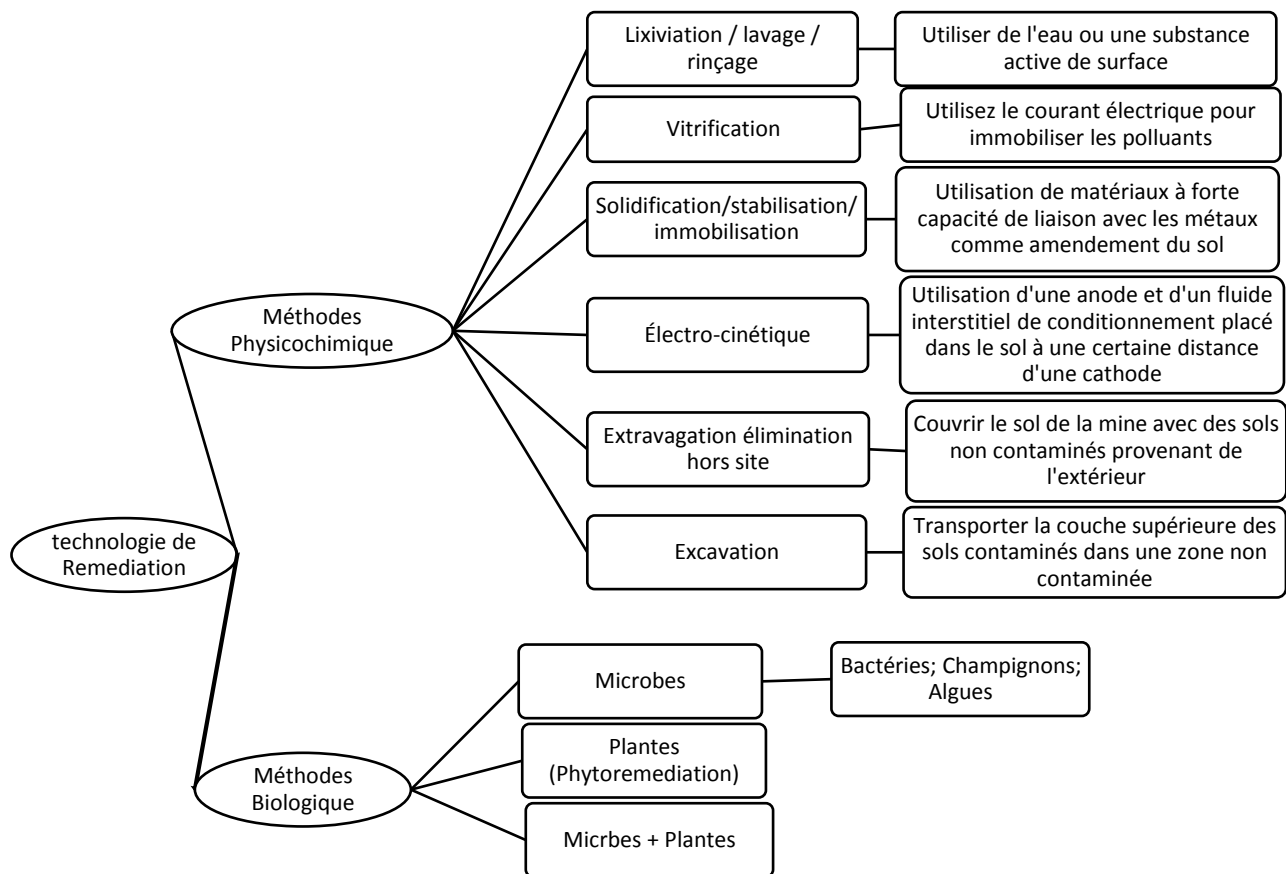


Figure 3: Techniques de remédiation des ETM dans les sols contaminés. (El Rasafi et al., 2017).

## IV.2 Méthodes Biologiques

En raison de plusieurs limites des approches physico-chimiques, les scientifiques à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle ont proposé des méthodes biologiques pour nettoyer les sites contaminés (Lasat 1997). Cette technologie est économique par rapport aux autres méthodes et elle est considérée comme une approche adéquate en raison de l'absence d'impact sur l'environnement (Chibuike and Obiora 2014; Gomes et al. 2016). Ces techniques peuvent utiliser les bactéries, les champignons, les levures et les végétaux qui ont la capacité de transformer les polluants en des substances moins toxiques pour l'environnement. De plus, certaines espèces végétales ont la capacité d'accumuler les métaux dans leurs tissus. La remédiation biologique des sols est composée de plusieurs techniques tel que la bioremédiation, la phytoremédiation, la bioventilation, la biolixiviation, les bioréacteurs, le compostage, la bioaugmentation et la biostimulation (Boopathy 2000; Ullah et al. 2015). En général, la bioremédiation et la phytoremédiation sont les plus utilisées (Ullah et al. 2015).

#### *IV.2.1 Bio-remédiation*

La bioremédiation repose sur l'utilisation de micro-organismes comme les champignons (*e.g.* les levures) et les bactéries pour l'absorption, la précipitation, l'oxydation et la réduction des métaux du sol en raison de leur capacité à dégrader et à détoxifier certains polluants (Garbisu and Alkorta, 2003; Lone et al., 2008; Jadia and Fulekar, 2009; Munees, 2012; Su et al., 2014; Nouri and Haddioui, 2016b). Généralement, les ETM peuvent être absorbés par les racines des plantes et être transformés par la plante elle-même ou par les microorganismes présents dans la rhizosphère (Chevrier 2013). Ces micro-organismes doivent avoir certaines caractéristiques telles que des enzymes pour dégrader les polluants en question et une forte résistance aux ETM présents dans la zone contaminée (Garbisu and Alkorta 2003). Nouri et Haddioui (2016c) ont indiqué que la bioremédiation est subdivisée en sept catégories: biodégradation, bioimmobilisation, biolixiviation, biosourcing, biorestauration, bioaugmentation et biostimulation. Le succès de la dégradation des polluants à l'aide de ces méthodes est lié aux bons microorganismes, aux bons endroits dans les conditions environnementales favorables (Boopathy, 2000). Ces méthodes sont généralement exploitées en aérobie et nécessitent plusieurs paramètres comme la nature des polluants, la structure du sol, la température, le pH, l'humidité, l'hydrogéologie, l'état nutritionnel, le potentiel redox et la diversité microbienne du site (Boopathy 2000; Kuiper et al. 2004; Munees 2012). En réalité, ces microorganismes ne sont toujours pas capables de dégrader tous les polluants qui rendent leurs actions infructueuses (Dua et al. 2002; Gerhardt et al. 2009). Ceci est dû à plusieurs raisons à savoir la concurrence entre la microflore et la microfaune présentes dans le sol et les microbes introduits; l'insuffisance de nutriments et la faible biodisponibilité des contaminants. De plus, les actions infructueuses de ces microorganismes sont dues à l'inhibition de la croissance microbienne en raison de la présence de substances toxiques dans le site contaminé (Gerhardt et al. 2009).

#### *IV.2.2 La phytoremédiation*

La phytoremédiation c'est un traitement biologique qui permet de décontaminer un sol à l'aide de plantes possédant la capacité d'emmagasiner les contaminants dans leurs tissus (Raskin and Ensley, 1999; Barceló and Poschenrieder, 2003; Kuiper et al., 2004; Lone et al., 2008; Jadia and Fulekar, 2009). Elle est considérée comme une solution verte et écologique pour réhabiliter les endroits contaminés par les EMT et elle est surtout adaptée à des traitements de grandes surfaces (Lasat, 2002; Garbisu and Alkorta, 2003; Ali et al., 2013). Les plantes utilisées dans cette technique sont connues pour leur capacité à accumuler une grande quantité

de métaux (Ahmadpour et al. 2012; Su et al. 2014). San Miguel (2011) a rapporté que la plante peut accumuler les ETM dans les espaces vacuolaires, les tissus de l'épiderme ou au moins réduire leur toxicité pour l'environnement.

Le premier site minier utilisant des plantes pour décontaminer le sol était dans les années 1970 (Barceló and Poschenrieder 2003) et les premières espèces végétales utilisées comme plantes accumulatrices de métaux étaient l'Alpine pennycress (*Thlaspi caerulescens*) et la pensée calaminaire (*Viola calaminaria*) (Lasat 1997). Récemment, plusieurs espèces végétales ont été utilisées pour la phytoremediation des sites pollués telles que la Renouée poivre d'eau (*Polygonum hydropiper*), l'Echinops (*Echinops spinosus L*) et le saule roux (*Salix atrocinerea*) pour le Zn (Wang et al., 2003) et la moutarde des champs (*Hirschfeldia incana*) pour le Pb (Auguy et al. 2013). De même, la plantation d'eucalyptus ou de pin a réduit la quantité du Cu et du Cr dans les sols miniers (Asensio et al. 2013). D'autres espèces végétales telles que les fougère du genre *Pteris* (*Pteris vittata L.*) et les herbacée comme l'*Alternanthera bettzickiana* ont été jugées comme de bonnes plantes phytoremédiatrices pour l'As, le Cd et le Pb (Fayiga and Saha 2016; Tauqeer et al. 2016).

Différentes phytotechnologies sont associées à la phytoremédiation telles que la phytoextraction, la phytofiltration, la phytostabilisation, la phytovolatilisation et la phytodégradation (Lone et al., 2008; Ali et al., 2013; Parmar and Singh, 2015). Les techniques les plus utilisées sont la phytoextraction et la phytostabilisation (Ali et al. 2013; Ghori et al. 2015; Laghlimi et al. 2015; Mahar et al. 2016).

La phytoextraction consistait à utiliser des plantes qui accumulent des polluants (plantes supérieures) pour éliminer les contaminants inorganiques, en particulier les métaux du sol contaminé, en les concentrant dans la partie aérienne comme les tiges et les feuilles (Lasat, 2002; Habiba et al., 2014; Nelson, 2016). Il existe deux types de phytoextraction : la phytoextraction naturelle basée sur l'utilisation des espèces végétales hyper-accumulatrices ou la phytoextraction induite par l'utilisation des plantes tolérantes aux métaux renforcées par l'ajout des agents chélateurs dans les sols (par exemple EDTA, acide citrique, sulfate d'ammonium) (Ghosh and Singh, 2005; Ali et al., 2013; Habiba et al., 2014; Ghori et al., 2015; Nelson, 2016). Ces agents chélateurs augmentent la biodisponibilité des métaux dans le sol, ce qui facilite leur absorption par les plantes (Wiszniewska et al. 2016). Au terrain, le succès de la phytoextraction n'est pas toujours évident. La croissance lente de la plante, la faible biomasse produite ainsi que la nécessité de récolter et d'incinérer ou de composter les plantes après leur absorption des métaux sont les limites de cette méthode (Gratão et al.

2005b; Laghlimi et al. 2015; Mahar et al. 2016). Pour cette raison, la méthode appropriée à utiliser est la phytostabilisation, appelée aussi phyto-immobilisation qui permet la réduction de la mobilité et de la biodisponibilité des métaux dans l'environnement en les fixant ou en les immobilisant dans les racines des plantes (Barceló and Poschenrieder, 2003; Frérot et al., 2006; Jadia and Fulekar, 2009; El Aafi et al., 2015). En effet, les racines absorbent les métaux ou les précipitent dans la rhizosphère (Ghosh and Singh, 2005; Wuana and Okieimen, 2011; Ali et al., 2013). Cette méthode a été utilisée pour le traitement des sols contaminés par les déchets miniers dans différentes régions du monde notamment Espagne et les États-Unis. En Espagne, Agrostide de Castille (*Agrostis castellana*) a été appliquée dans des sites miniers abandonnés pollués par plusieurs métaux tels que le Cd, le Pb, l'As, le Cu et le Zn (Parmar and Singh 2015). Aux États-Unis au nord de la Floride, Wiregrass Gentian (*Gentiana pennelliana*) a été révélée adaptée aux sites contaminés par le Pb, Cu et Zn (Yoon et al. 2006). Généralement, l'utilisation de la phytostabilisation après la phytoextraction diminue la biodisponibilité des métaux et leurs mobilités et minimise leur transfert dans les eaux souterraines ou dans la chaîne alimentaire même s'ils restent dans les sols.

La réussite de la phytoremediation requiert l'intervention de plusieurs facteurs à savoir :

- une bonne connaissance du site contaminé (du point de vue géologique, hydrique et caractéristique du sol)
- la nature des polluants organiques (hydrocarbures, HAP, BTEX, PCB, solvants halogénés...) ou inorganiques (cyanures, arsenic, cadmium, chrome, cuivre, nickel, plomb, zinc...)
- la détermination des éléments traces métalliques à extraire du sol
- la sélection de la bonne espèce végétale.

La sélection de la plante destinée à l'utilisation dans la phytoremediation est basée sur plusieurs critères à savoir la profondeur des racines, la nature des contaminants et du sol et les conditions climatiques de la zone contaminée (Laghlimi et al. 2015). En effet, le premier critère à chercher dans ce type de plantes est leur capacité d'accumuler une bonne quantité d'ETM (Hakeem et al. 2015). Ces plantes dites hyper-accumulatrices d'ETM, sont capables d'accumuler plus de 100 mg g<sup>-1</sup> de poids sec (PS) de Cd et d'As, plus de 1000 mg g<sup>-1</sup> PS de Co, Cu, Cr, Ni et Pb et plus de 10000 mg g<sup>-1</sup> PS de Mn et Zn (Prasad and Freitas 2003; Sessitsch et al. 2013). Aussi, ces plantes doivent avoir :

- Une importante tolérance aux ETM et surtout aux éléments ciblés, avec une production d'une biomasse élevée (Kavamura and Esposito, 2010; Jan and Parray, 2016; Sarwar et al., 2017)
- Une croissance rapide même dans les zones contaminées (dans ou en dehors de son environnement d'origine) (Barceló and Poschenrieder, 2003; Ghosh and Singh, 2005; Bhargava et al., 2012).
- Une bonne adaptation aux conditions climatiques, une meilleure résistance aux pathogènes et ravageurs et facile à cultiver et à récolter (Ali et al. 2013).

#### *IV.2.3. Le renforcement de la phytoremédiation*

##### *IV.2.3.1. Les déchets organiques*

Le fumier est une matière organique issue des déchets d'animaux mélangés avec les excréments, les urines, la litière (paille, fougère, etc.), les aliments renversés, l'eau potable renversée et l'eau utilisée pour le lavage (Christensen and Sommer 2013). Ces déchets organiques ont été utilisés dans le passé dans l'agriculture comme fertilisant à cause de leur rôle dans l'amélioration des propriétés physiques des sols et aussi leur importance comme source de nutriments (Park et al. 2011; Rizwan et al. 2016a; Tang et al. 2016). De nos jours, ces amendements organiques sont utilisés pour la remédiation des sols contaminés par les ETM. Plusieurs travaux ont rapporté l'importance de ce type de déchets dans la réduction de la biodisponibilité des ETM dans les sols contaminés (Tejada et al., 2008 ; Pardo et al., 2014; Putwattana et al., 2015; Rizwan et al., 2016a). Putwattana et al. (2015) ont montré que les déchets des vaches peuvent réduire la concentration du Cd et du Zn dans la partie aérienne du maïs. De même, Rehman et al. (2016) ont montré que l'utilisation des fumiers d'animaux provoquent une augmentation de la croissance des traits morphologiques du maïs, de la teneur en chlorophylle et de l'absorption de quelques éléments à savoir Cu, Fe et Mn et une diminution de l'absorption du Ni dans un sol traité par 160 mg Ni kg<sup>-1</sup>. Généralement, les déchets des animaux ont donc un important rôle dans la phytoextraction et la phytostabilisation des ETM dans le sol (Park et al., 2011; Rizwan et al., 2017, 2016a; Rehman et al., 2017).

##### *IV.2.3.2. Le charbon végétal*

Le charbon végétal (biochar) est le résultat de la dégradation thermique (pyrolyse) de la matière organique en absence ou en atmosphère appauvrie en oxygène (Bopp et al., 2016; Xu et al., 2016; Rizwan et al., 2017). Ce biochar peut être produit à l'aide de différents types de matières organiques à savoir les résidus végétaux, les fumiers, les pailles, les copeaux de bois,

les boues et autres résidus de biomasse provenant de la production agricole (Zhang et al., 2013 ; Rizwan et al., 2015; Xu et al., 2016; Yang et al., 2016). Le biochar est généralement composé de carbone d'où son utilisation dans le passé comme amendement des sols dont le but d'améliorer la productivité du sol (Park et al., 2011 ; Kim et al., 2015). Actuellement, le biochar est très utilisé comme amendement du sol afin d'améliorer la phytoremediation (Xu et al. 2016). L'attention accordée au biochar est due à sa capacité à complexer les polluants organiques et inorganiques (Tang et al. 2016) ainsi qu'à réduire la mobilité et la biodisponibilité des ETM et à minimiser leur absorption par les plantes (Kim et al. 2015; Yang et al. 2016; Younis et al. 2016). Cependant, le biochar peut augmenter la disponibilité et l'absorption des nutriments (N, P, K et S), la rétention en eau du sol, l'émission de quelques composés organiques dans le sol (ex : éthylène) ce qui améliore le développement de la plante (Graber et al., 2010; Spokas et al., 2010; Lehmann et al., 2011; Puga et al., 2015; Rizwan et al., 2015). L'absorption des ETM en présence du biochar dépend de plusieurs facteurs tels que le type de plante, le type du sol, le type de biochar utilisé et la méthode d'application du biochar (Rizwan et al. 2015).

Puga et al. (2015) ont rapporté que le biochar diminue la concentration de Zn, Cd et Pb chez le haricot sabre (*Canavalia ensiformis*) et Le haricot de velours (*Mucuna aterrima*) cultivé dans un mélange de concentrations croissantes de biochar de la canne à sucre et de sol provenant d'une ancienne mine de zinc. Ces auteurs ont également rapporté d'autres effets du biochar sur le sol tels que l'augmentation des nutriments (concentration de P dans le sol) et la concentration de K (dans la partie aérienne) ainsi que l'augmentation de la matière sèche des racines et / ou des tiges des espèces testées. Dans une autre étude, le maïs et l'ivraie (*Lolium*) cultivés sur un sol artificiel mélangé à  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  Pb et  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  de Cd et traité avec du biochar de bambou, de paille de riz et de blé ont montré une réduction de l'accumulation de Cd dans les tiges (Xu et al. 2016). Aussi, le biochar produit à partir des copeaux de bois des arbres de conifères a réduit la disponibilité et l'absorption de Cu et Zn par les plantes et augmente l'extractibilité du calcium et la disponibilité du phosphate dans trois sites pollués avec le Zn, Pb et Cu (Bopp et al. 2016).

## V. Choix Méthodologique

Ce travail présente l'originalité d'étudier l'utilisation des substances naturelle (substances organiques) tels que l'humus et le biochar pour augmenter l'efficacité de la phytoremediation et la dépollution d'un sol contaminé issu d'un ancien site de mine de fer d'Ait Ammar. En

effet, si les études concernant l'utilisation de l'humus dans la phytoremediation des sols contaminés par les ETM sont nombreuses, il existe peu de travaux concernant l'utilisation du biochar dans la phytoremediation surtout au Maroc. A notre connaissance, c'est le premier travail au Maroc qui utilise le biochar et les fumiers dans le but de renforcer la phytoremediation. Aussi, nombreux les travaux qui étudient la résistance de *Eucalyptus globulus* aux différents types de stress abiotiques à savoir le stress hydrique, le stress salin ou le stress thermique mais peu de recherche sur l'utilisation de cette plante dans la dépollution des sols contaminés par les ETM.

Dans le présente étude, on a utilisé le test de germination car les plantes sont très sensibles aux changements environnementaux (Solanki and Dhankhar, 2011) en particulier pour la pollution des ETM (Chaâbene et al., 2015; Nagajyoti et al., 2010). A cause de cette sensibilité le test de germination peut être utilisé comme un bon indicateur du stress des ETM (Elleuch et al., 2013; Munzuroglu and Geckil, 2002). Il a été rapporté que le test de germination est une procédure de base pour déterminer les effets de la toxicité des métaux sur différentes espèces végétales (Adrees et al., 2015; Bankaji et al., 2017). Dans ce travail, le test de germination est effectué avec cinq espèces végétales : le blé, l'orge, le maïs, le fenugrec et haricot. Ce nombre élevé de gaines est justifié premièrement par le test de différentes espèces végétales appartenant aux différentes familles (*Poacées* et *Fabacées*) avec différentes caractéristiques morphologiques (présence ou absence du tégument) ou anatomiques (monocotylédones et dicotylédones). Aussi, le choix du blé, de l'orge et du maïs dans la germination vient de l'importance économique, agricole et alimentaire des céréales dans le monde et aussi au Maroc, et parce que les villageois d'Ait Ammar cultivent ces espèces végétales pour l'alimentation de leurs bétailles. Alors, le fenugrec est utilisé vu le rôle médicinale qu'il possède et dans le but de vérifier dans le futur l'effet des ETM sur la capacité phytothérapeutique de cette plante. En effet, l'utilisation du haricot est argumentée par la présence de l'écorce chez ce type de graine qui pourra les protéger contre la contamination métallique.

Pour nettoyer les sols des mines les méthodes physico-chimiques à savoir la Lixiviation / lavage / rinçage des sols, l'électro-cinétique, l'élimination hors site et la Solidification / stabilisation / immobilisation sont trop coûteuses en termes de temps et d'argent et ont des limites importantes et des effets secondaires sur l'environnement et l'écosystème. Dans ce contexte, on a pensé à utiliser une méthode simple, moins chère et considérée comme une solution verte et écologique, il s'agit de la phytoremediation. On a choisi *Eucalyptus globulus* on se basant sur sa croissance rapide, ces mécanismes d'adaptation, son système



racinaire important et sa capacité de vivre dans de nombreux environnements. Cependant, l'utilisation de l'humus vient de son rôle dans la fertilité du sol et sa capacité de complexer les ETM. De même pour le biochar, cette substance maintient la fertilité du sol tout en évitant l'épuisement de ces sols.

Ces études physico-chimiques du sol de la mine d'Ait Ammar ont montrées que le sol de référence du site contient des teneurs importantes d'ETM à l'instar du Fe, Zn, Cr et Cd et un pH neutre (Tableau 3). Dans ce contexte, vient le choix d'utiliser un sol de référence naturel (cf. matériels et méthodes § I.1.1 et IV.1). Ce sol est prélevé de la forêt du khénifra, connu comme non contaminé et loin de toute sorte d'activité agricole ou industrielle, a été l'objectif de plusieurs analyses pour déterminer ces caractéristiques physico-chimiques à savoir le pH, la granulométrie (teneur en argile), la conductivité électrique (CE), la matière organique ainsi que la composition en métaux.

# *Matériels et Méthodes*

## A. Présentation des composants étudiés

### I. Le sol étudié

#### I.1. Situation géographique du sol étudié

Le gisement de fer oolithique d'Ait Ammar est situé à 25km au NW d'Oued Zem dans le massif hercynien central sur la feuille topographique d'Ezzhiliga (X : 382,5 ; Y : 274,9). Il est au point triple entre les territoires de trois grandes tribus, les Smaala, Beni Smir et Beni Khayrane (Figure 4) (Boushaba and Michard 2011).

Ce gisement fait partie de l'anticlinorium de Khouribga-Oulmès où il est encaissé dans une série schisto-gréseuse d'âge ordovicien moyen, puissance de 0 à 17m, s'étend sur 1000m à 1500m en surface et a été reconnu en profondeur par 93 forages. La couche minéralisée débute par un niveau de schistes noirs chloriteux et son passage au toit gréseux et micacé s'établit par l'intermédiaire de niveaux schisteux. Le minerai avait une teneur de 43% à 48% de Fe, 11 à 17% de  $SiO_2$ , et 8% d' $Al_2O_3$ .

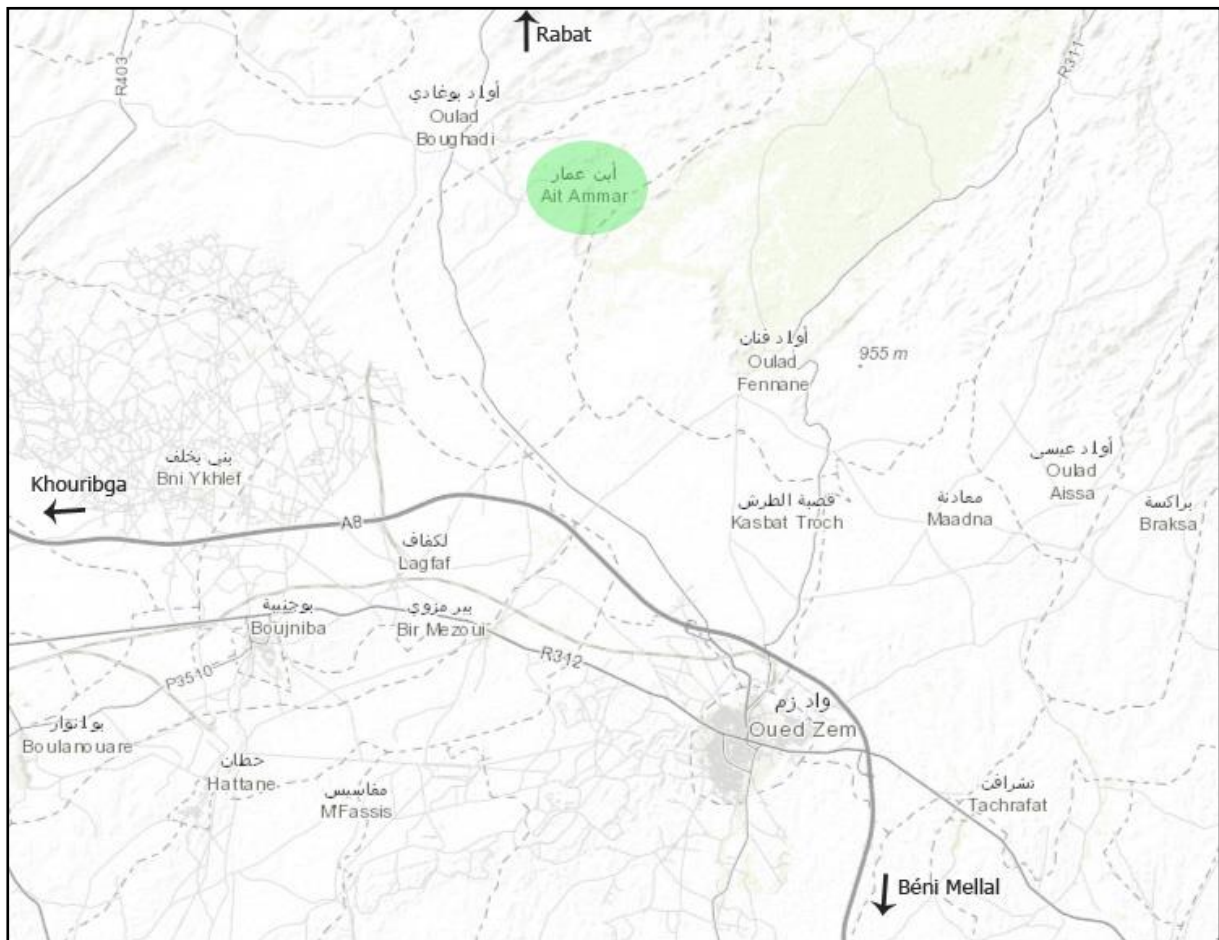


Figure 4: Localisation du gisement d'Ait Ammar sur un extrait de la carte du Maroc.

(Modifiée du Google Earth, 2018)

## I.2. Données sur l'exploitation de ce gisement

Ce gisement qui a été exploité entre 1937 et 1962 par la Société Marocaine des Mines et des Produits Chimiques (SMMPC) a produit environ 6 millions de tonnes de minerai (Figure 5). Cette exploitation, faite essentiellement en carrière, a cessé à cause des teneurs faibles en Fe (entre 43 et 47%). Cependant, les réserves souterraines sont relativement importantes. Les campagnes géophysiques effectuées ont permis d'avancer le chiffre de 20 millions de tonnes. D'autres anomalies magnétiques n'ont pas été interprétées et laissent supposer des réserves supplémentaires de 65 millions de tonnes.

## I.3. Caractéristiques physico-chimiques du sol du site

Des travaux antérieurs menés par notre laboratoire et le laboratoire portugais sur 20 points de quatre transepts (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> et T<sub>4</sub>) ont montré que le sol de ce site est caractérisé par un pH acide (3,64-6,75), une faible conductivité, une teneur en matière organique comprise entre 1,06 et 5,01% et un pourcentage d'argile / limon qui varie de 20,3 à 38,0%. Cependant, le sol de référence du site minier étudié présente un pH et un pourcentage argile/limon plus élevés (pH = 7,10, argile / limon = 77,2%). Concernant les teneurs en métaux, la concentration est différente d'un transept à l'autre sans aucun gradient avec les valeurs les plus élevées sont trouvées dans les transepts T<sub>1</sub>, T<sub>3</sub> et T<sub>4</sub> (Madani *et al.* 2015; Marques *et al.* 2014) et les teneurs les plus élevées en métaux ont été obtenues pour le Fe, le Cr et le Zn (Marques *et al.* 2014, Nouri et Haddioui, 2016). De même, la quantité de métaux trouvés dans le sol de référence a été également élevée.

Le sol étudié dans ce travail est considéré par Marques *et al.* (2014) et Nouri *et al.* (2014) comme le sol le plus contaminé du site d'Ait Ammar contenant des concentrations élevées de Cd, Cr et Fe, et un pH légèrement acide (5.97). Pour ces raisons, nous avons choisi d'étudier l'effet de ce sol sur la croissance des espèces végétales. Les caractéristiques physico-chimiques de ce sol et celles du sol de référence du site de mine sont présentées dans le tableau 3.



Figure 5: Photo montrant le gisement de fer d'Ait Ammar

Tableau 3: Caractéristiques physico-chimiques du sol contaminé et du sol de référence. D'après Marques et al. (2014) et Nouri et al. (2014).

|                                  |                        | Sol de Référence | Sol Contaminé |
|----------------------------------|------------------------|------------------|---------------|
| pH <sub>eau</sub>                |                        | 7,97 ± 0,013     | 6,54 ± 0,04   |
| Cond. E.                         | (μS cm <sup>-1</sup> ) | 161,17 ± 7,1     | 367,00 ± 8,02 |
| OM                               | (%)                    | 4,52 ± 0,73      | 3,33 ± 0,83   |
| Argile                           | (%)                    | 77,2             | 52,2          |
| C/N ratio                        | -                      | 7,85             | 25,85         |
| Concentrations Totale des métaux |                        |                  |               |
| Cd                               |                        | 5,14             | 20,40         |
| Cr                               |                        | 166,02           | 167,95        |
| Cu                               |                        | 44,76            | 21,93         |
| Zn                               | mg Kg <sup>-1</sup>    | 155,377          | 92,99         |
| Pb                               |                        | 0,92             | 1,70          |
| Fe                               |                        | 228030,0         | 59780,0       |
| P                                |                        | 11020,0          | 2840,0        |

## II. Le matériel végétal utilisé

6 espèces végétales ont été choisies pour réaliser les différents tests dans ce travail. Ces espèces sont (tableau 4):

- ✓ Deux espèces dicotylédones: le Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) et le Haricot (*Phaseolus vulgaris*),
- ✓ Trois espèces monocotylédones: l'Orge (*Hordeum vulgare*), le Blé (*Triticum aestivum*) et le Maïs (*Zea Mays*).
- ✓ Une espèce angiosperme: L'*Eucalyptus* commun (*Eucalyptus globulus*).

### II.1. L'orge et le blé

L'orge (*Hordeum vulgare*), le blé (*Triticum aestivum*) sont des monocotylédones annuelles à tiges dressées et robustes, de la famille des *Poacées*, qui possèdent des caractéristiques

morphologiques et des organes végétatifs et floraux presque semblables. Ces plantes possèdent un système racinaire fasciculé formé de racines adventives. Leurs tiges ou chaumes sont composés de nœuds et entre nœuds avec des feuilles alternées possédant un limbe long. A chaque nœud s'insère une feuille avec nervures parallèles embrassant la tige par une longue gaine ligule.

## II.2. Le maïs

Le maïs (*Zea mays L.*) est une plante tropicale herbacée annuelle et qui appartient à la classe des monocotylédones (famille des *Poacées*). Le système racinaire est composé d'un grand nombre de racines adventives situées sur les nœuds à la base de la tige. Il est caractérisé par des racines traçantes (dites racines de surface) qui prélèvent l'eau et les nutriments nécessaires à la plante dans les couches superficielles du sol.

## II.3. Le fenugrec

Le fenugrec (*Trigonella foenum graecum. L*) est une plante herbacée annuelle de la famille des Fabacées. Cette plante se distingue par sa tige haute pouvant atteindre 50 cm, ses feuilles ovales et dentées et ses fleurs qui oscillent entre le jaune et le violet et groupées en petites boules (comme le trèfle). Le fruit est une gousse recourbée qui peut mesurer jusqu'à 20 cm de long et qui renferme de nombreuses graines jaunes (10-12 graines de 3mm).

## II.4. Le haricot

Le haricot (*Phaseolus vulgaris*) est une plante herbacée annuelle de la famille des Fabacées. Il est caractérisé par un système racinaire pivotant et des feuilles composées (trifoliolées) et des fruits sous forme de gousse.

## II.5. L'*Eucalyptus globulus*

*Eucalyptus globulus* (ou appelé aussi gommier bleu) originaire d'Australie (Luo et al. 2015) et considéré avec les autres espèces du genre d'*Eucalyptus* comme la plus cultivée dans le monde (Cipriani et al. 2012; De Alcântara et al. 2015). Merchant et al. (2007) ont rapporté qu'il y a plus de 900 espèces dans le genre *Eucalyptus*. *Eucalyptus globulus* appartient à la famille des *Myrtacées* et caractérisé par des feuilles persistantes, tronc droit avec une écorce lisse et des fleurs blanchâtres (Coppen 2002).

Tableau 4: Les espèces végétales sélectionnées pour cette étude.

|   | Nom scientifique                 | Nom commun   | Famille   | Botanique         |
|---|----------------------------------|--------------|-----------|-------------------|
| 1 | <i>Hordeum vulgare</i>           | Orge         | Poacées   | herbacée annuelle |
| 2 | <i>Triticum aestivum</i>         | Blé          | Poacées   | herbacée annuelle |
| 3 | <i>Zea mays</i>                  | Maïs         | Poacées   | herbacée annuelle |
| 4 | <i>Trigonella foenum graecum</i> | Fenugrec     | Fabacées  | herbacée annuelle |
| 5 | <i>Phaseolus vulgaris</i>        | Haricot      | Fabacées  | herbacée annuelle |
| 6 | <i>Eucalyptus globulus</i>       | Gommier bleu | Myrtacées | vivace ligneuse   |

## B. Mise en place des expérimentations

### I. Analyse physico-chimique du sol de référence naturel.

#### I.1. Situation géographique

Nous avons également utilisé un sol naturel (comme deuxième sol de référence) connu comme un sol non contaminé et loin de toute sorte d'activité agricole ou industrielle). Ce sol est prélevé de la forêt de khénifra (32°57'10.0"N 5°28'43.8"W) le long de la route du parc national d'Aguelmame Aziza (Figure 6). La zone d'Aguelmame Aziza est une zone forestière couverte par le chêne vert et le cèdre et située à une altitude de 1470 m avec une précipitation moyenne de 1150 mm/an (Chillasse et al. 2001).

#### I.2. Prélèvement du sol

Pour prélever le sol nous avons écarté la partie superficielle contenant les débris des végétaux et les grosses pierres. Pour obtenir un échantillon représentatif de la zone de prélèvement, l'opération est répétée 5 fois en étoile autour d'un point central. Après la collection, les échantillons sont transportés au laboratoire dans des sacs en plastiques propres et fermés hermétiquement. Les échantillons sont homogénéisés, séchés à l'air libre, puis tamisés avec un tamis de 2 mm de mailles pour éliminer les pierres, la partie métallique et les fragments de plantes. Par la suite, plusieurs analyses ont été réalisées sur ces échantillons pour déterminer leurs paramètres physico-chimiques (la granulométrie, le pH, la conductivité électrique, la matière organique) et leurs teneurs en ETM.



### I.3. Granulométrie par tamisage

La détermination de la dimension des particules contenues dans le sol et leur répartition a été réalisée par la méthode de tamisage (Norme AFNOR NF X31-101). L'échantillon de sol (500g de sol séché à 105°C pendant 24h) a été placé dans le tamis supérieur d'une colonne de tamis fixée sur un vibreur (fréquence maximal de vibreur). Après 15 min les quantités de granulats retenues dans chaque tamis (2 mm, 1 mm, 500 µm, 250 µm, 100 µm et 63 µm) ont été pesées.

### I.4. Mesure du pourcentage d'humidité

Pour déterminer la teneur en eau du sol, nous avons utilisé la méthode basée sur la perte de masse après passage à l'étuve à 105°C. Selon cette méthode (Norme AFNOR NF X 31-102, 1992), nous avons effectué une double pesée avant et après un passage d'une durée de 24 heures à l'étuve. Le pourcentage d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100$$

Où :  $m_1$  : masse de sol avant séchage (g). ;  $m_2$  : masse de sol après séchage (g).

### I.5. Mesure du pH et de la conductivité électrique

10 g de sol séché à l'air libre, broyé et tamisé sont mis en suspension dans 50 ml d'eau distillée (1 : 5). Le mélange est agité pendant 30 min à l'aide d'un agitateur magnétique et est ensuite décanté pendant une heure. Le pH est déterminé à l'aide d'un pH-mètre (Norme AFNOR NF X31-103, 1992).

L'acidité potentielle a été mesurée dans une suspension Sol – KCl à 1M de même rapport (1/5), après un repos de 30 min qui suit une agitation de 15 min.

La conductivité électrique du sol a été déterminée à l'aide d'un conductimètre. Elle a été mesurée à l'aide d'une suspension de 10g de sol dissous dans 50 ml d'eau distillée et agité pendant 30 min. Les valeurs ont été lues après 5 min de repos exprimée en (µS/cm) à 22±1°C.

### I.6. Mesure de la matière organique

La teneur en matière organique a été déterminée par incinération de l'échantillon du sol séché à 550 °C pendant 4 heures (Martínez *et al.* 2018). Les résultats sont calculés à partir de l'équation suivante :

$$MO (\%) = \frac{\text{Poids sol sec (g)} - \text{Poids sol incinéré (g)}}{\text{Poids sol sec (g)}} \times 100$$

## I.7. Caractérisation minéralogique et dosage des métaux

L'identification minéralogique a été réalisée par analyse par diffraction des rayons X (XRD) en utilisant un diffractomètre panalytique Empyrean (Pays-Bas) qui fonctionne avec un rayonnement de cuivre ( $K\alpha$  (Cu) = 1,5418 Å) (40,0 kV; 40,0 mA).

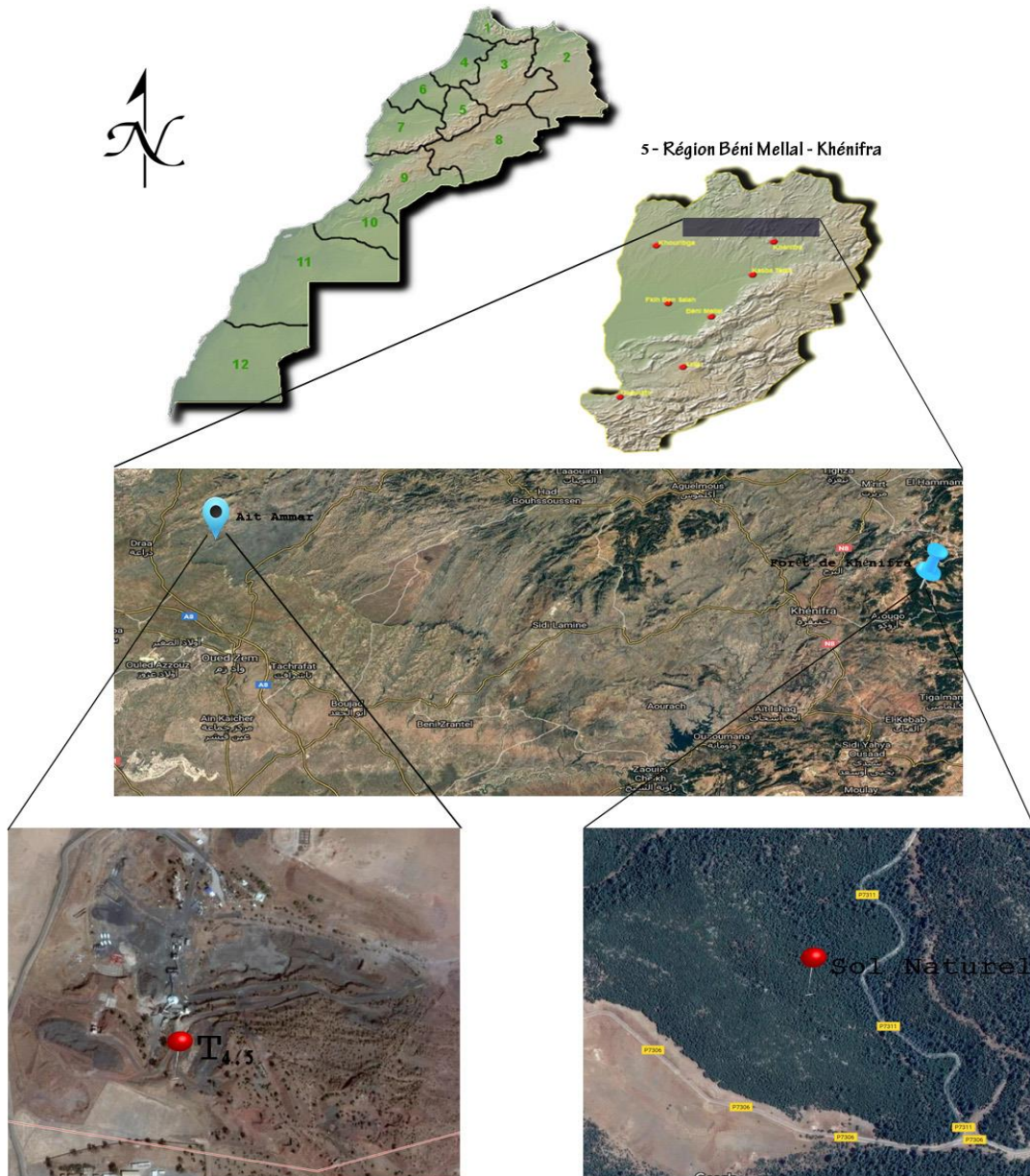


Figure 6: Localisation du point de sol de référence naturel (Sol Naturel) et le point le plus contaminé du site minier (T4.5).

Les points sont marqués en rouge.

## II. Effets des métaux sur la germination des graines

### II.1. Dispositif de germination

Deux essais ont été utilisés pour l'étude de l'effet des métaux sur la germination des graines, le premier sur un papier filtre et le deuxième sur le sol.

#### II.1.1 Matériel végétal

Cinq espèces végétales, l'orge, le blé, le maïs, le fenugrec et le haricot, ont fait l'objet de l'étude de la germination sur le papier filtre. Concernant l'étude de la germination sur le sol, nous avons utilisé trois espèces végétales : l'orge, le maïs et le fenugrec.

#### II.1.2. Les supports utilisés

Le test de germination a été réalisé dans des boîtes de Pétri stériles de 9cm de diamètre. Ce test est effectué en utilisant deux types de supports : le papier filtre et le sol.

✓ Papier filtre: chaque boîte de Pétri tapissée d'une seule couche de papier filtre est imbibée de 5 ml de la solution métallique ou d'eau distillée dans le cas du contrôle.

✓ Le sol: deux types de sols sont utilisés. Le premier est un sol prélevé de deux points de la mine de fer d'Ait Ammar : un sol jugé comme le plus contaminé de la mine et l'autre situé à 15 km au nord du site considéré comme sol de référence du site. Le deuxième, est un sol standard européen non contaminé nommé Lufa 2.2, utilisé également comme référence. Au début du test, les différents types de sols sont humidifiés par le volume nécessaire d'eau distillée pour atteindre 80% du  $WHC_{max}$  du sol. Dans le cas du Luffa 2.2, ce volume est utilisé pour dissoudre des quantités progressives des ETM testés (cadmium (Cd), fer (Fe) et zinc (Zn)) pour avoir les concentrations demandées. Après humidification, le sol est ensuite séparé dans les boîtes de Pétri.

#### II.1.3. Préparation de la solution métallique

Les différentes solutions des trois métaux étudiés (Cd, Fe et Zn) sont préparées respectivement à partir de  $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ ,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  et  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ . Sept doses en plus du contrôle ont été testées pour chaque élément trace : 0, 10, 50, 100, 250, 500, 750 et 1000 mg/kg de sol (ou mg/L dans le cas du papier filtre).

#### II.1.4. Préparation des graines

Dans le but d'éviter la contamination fongique et bactérienne, les graines des espèces étudiées sont désinfectées par l'hypochlorite de sodium ( $NaClO$  1%) pendant 10 min, suivi d'un rinçage à l'eau distillé stérile et d'un trempage pendant 1 min à l'éthanol 70% (v/v). Après la

désinfection, on a éliminé le reste de la solution désinfectante par un rinçage répété 5 fois successives avec l'eau distillée stérile.

## II.2. Déroulement du test

Les graines qui ne présentant aucune anomalie morphologique et de même taille ont été mises en germination dans des boites de pétri contenant du papier filtre ou les différents types de sol. Les graines sont espacées entre elles à l'intérieur de la boite de Pétri d'environ 1cm. La germination a duré 6 jours et a lieu à 23±1°C et à l'obscurité. Chaque traitement comporte 10 graines par boite. Quatre répétitions par traitement sont réalisées.

## II.3. Mesures effectuées

### II.3.1. Taux de germination

Après 6 jours, le nombre de graines germées dans chaque boites de Pétri est déterminé dans le but de calculer le pourcentage de germination (GP). Les graines dans les deux supports sont considérées à l'état de germination quand la radicule émerge de 5 mm (Wang et al. 2001). Ce pourcentage est calculé en utilisant l'équation de Tanveer et al. (2010) :

$$GP = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre de graines totales}} \times 100$$

### II.3.2. Longueur des racines et des tiges

La longueur des racines et des tiges de chaque plantule issue de la germination sont mesurées à l'aide d'une règle graduée.

### II.3.3. Indice de tolérance

Les longueurs des racines mesurées dans chaque traitement sont utilisées pour estimer un indice dit indice de tolérance (I.T). Cet indice permet d'avoir une idée sur la capacité des plantes à pousser dans des milieux contaminés en comparaison avec un milieu non contaminé. L'indice de tolérance est calculé selon l'équation proposée par Iqbal et Rahmati (1992) et Tam et Tiquia (1994) :

$$T.I = \frac{\text{Moyenne de la longueur des racines dans le traitement}}{\text{Moyenne de la longueur des racines dans le contrôle}} \times 100$$

### III. Effets des éléments traces métalliques chez *E. globulus*.

#### III.1. Matériel végétal

Les plantules d'*Eucalyptus globulus* nous ont été fournies par une pépinière au Portugal (Figure 7). Soixante plantules de même taille ont été sélectionnées pour étudier leur aptitude à tolérer et accumuler les ETM.



Figure 7: Sélection des plantules d'*Eucalyptus globulus* et mise en culture dans les différents types de substrats utilisées dans le test.

#### III.2. Mise en culture

La culture des plantes a été réalisée dans une chambre de culture sous une photopériode de 16<sup>L</sup> à 8<sup>D</sup> avec un flux lumineux de 160  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  et une température de  $23 \pm 1$  °C pendant 3 mois.

Les sols utilisés pour la culture de ces plantes sont :

- ✓ Le sol du point le plus contaminé du site de la mine de fer d'Ait Ammar (CS).
- ✓ Le sol du point situé à 15 km au nord du site est utilisé comme sol de référence (REF).
- ✓ Le substrat artificiel utilisé comme contrôle et qui consiste en un mélange hydraté de vermiculite non acide et de substrat humique/tourbe à une proportion de 3:2.

La culture de ces plantules a été réalisée dans des pots en plastique d'un volume d'environ 760  $\text{cm}^3$  placés dans des bassines où l'eau d'irrigation est versée en cas de besoin (Figure 8). Les 3 groupes de plantules sont placés dans une chambre de culture jusqu'à la fin du test. Afin de minimiser le stress potentiel causé par une carence nutritive, une solution nutritive (environ 10  $\text{mL L}^{-1}$  d'eau distillée) a été ajoutée aux plantes tous les 15 jours. Environ 10 ml de la

solution nutritive par 500 g de sol est ajoutée dans chaque pot. La composition de la solution nutritive utilisée (Nutriquisa 5-8-10® - Agroquisa®) est la suivante: 6,0% (m / m) d'azote, 9,7% (m / m) de phosphore (sous forme de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) et 12% (m / m) de potassium.

### III.3. Mesures des paramètres morphologiques et physiologiques des plantes

Au cours de cette expérience, nous avons mesuré les paramètres suivants :

- ✓ La longueur de la plante, l'efficacité maximale ( $F_v/F_m$ ) du photosystème II (PSII) et le rendement quantique du PSII ( $\Phi$ PSI) ont été déterminées tous les 15 jours.
- ✓ La surface foliaire, la teneur relative en eau des feuilles, les chlorophylles (a et b), les caroténoïdes et les teneurs en MDA ont été mesurés tous les mois à partir du 15<sup>ième</sup> jour.

Les feuilles prélevées pour assurer les analyses physiologiques sont conservées à une température de -80 °C.



Figure 8: Les plantes d'*Eucalyptus globulus* dans des pots arrangés dans des bassines et placées dans la chambre de culture.

#### III.3.1. La longueur de la plante

La longueur de la plante a été mesurée avec une règle à partir du point le plus bas de la tige visible au-dessus du niveau du sol jusqu'à son point le plus élevé.

#### III.3.2. Efficacité du photosystème

L'efficacité du PSII a été déterminée par la quantification de l'efficacité maximale qui est le rapport entre la fluorescence variable et maximale ( $F_v/F_m$ ) et le rendement quantique ( $\Phi$ PSII)

de PSII. Ce paramètre est mesuré avec un fluorimètre portable (Walz® MINI-PAM, Analyseur de Rendement de la Photosynthèse) qui fournit directement une indication sur la photosynthèse globale par le calcul de la capacité photosynthétique de la plante sans avoir besoin d'enlever les feuilles de la plante. Les mesures ont été réalisées sur des feuilles de dix plantules sélectionnées au hasard pour chacun des trois traitements. La fluorescence a été mesurée au départ dans des feuilles déjà exposées à la lumière pour calculer  $F_t$ ,  $F'_m$  et  $F'_0$ . Ensuite, la mesure est effectuée sur une feuille adaptée à l'obscurité pendant 30 minutes à l'aide des pinces spéciales adaptées au noir permettant à une petite zone de la feuille d'être complètement dépourvue de lumière mettant les photosystèmes des feuilles dans un état stable. Les valeurs de fluorescence minimal ( $F_0$ ) et maximal ( $F_m$ ) sont lues.

Les paramètres de fluorescence sont calculés comme décrit par Maxwell and Johnson (2000):

$$F_v/F_m = \frac{(F_m - F_0)}{F_m}$$

$$\Phi_{PSI} = \frac{(F'_m - F_t)}{F'_m}$$

Avec :

$F_v/F_m$  : Efficacité photochimique maximale du photosystème II,

$F_m$  : Fluorescence maximale dans les plantes adaptées à l'obscurité,

$F_0$  : Fluorescence minimale dans les plantes adaptées à l'obscurité,

$\Phi_{PSI}$  : Rendement quantique du photosystème II,

$F'_m$  : Fluorescence maximale à l'état adapté à la lumière

$F_t$  : Valeur de fluorescence à l'état d'équilibre.

### III.3.3. La surface foliaire:

A partir de dix plantes choisies au hasard de chaque groupe de traitement, dix feuilles sont soigneusement retirées et photographiées avec une échelle métrique. Cette image est traitée avec le logiciel ImageTool pour déterminer la surface foliaire.

### III.3.4. La teneur relative en eau

La teneur relative en eau (RWC) a été calculée en se basant sur la méthode de Weatherly (1950). Tout d'abord, on détermine le poids frais (FW) directement après l'enlèvement de la feuille. Puis, le poids de turgescence (TW) mesuré après immersion des feuilles dans de l'eau

distillée pendant 24h. Enfin, le poids sec (DW) obtenu après séchage des feuilles turgescentes pendant 72h à 60 ° C. Les valeurs de RWC ont été calculées selon la formule suivante:

$$\text{RWC (\%)} = \frac{(\text{FW} \times \text{DW})}{(\text{TW} \times \text{DW})} \times 100$$

### III.3.5. La teneur en pigments : chlorophylle a, b et caroténoïde

La teneur des chlorophylles a et b et des caroténoïdes est quantifiée en utilisant la méthode de Sims and Gamon (2002). 150 mg de feuille est homogénéisé dans un mortier en présence de 2 ml de tampon acétone / Tris [50mM] (80:20) (v/v). Le broyat obtenu est versé dans un tube de 15ml et mixé par un vortex pendant 30s puis centrifugé pendant 10 min à 5000 g. Le surnageant ainsi obtenu est transféré dans un autre tube recouvert d'une feuille d'aluminium pour empêcher le contact avec le rayonnement UV. Par la suite, 3 ml de la solution tampon acétone / Tris est ajouté au culot et mixé par un vortex puis centrifugé une autre fois à 5000 g pendant 10 min. Le surnageant ainsi obtenu est ajouté à l'extraction précédente puis compléter avec la solution tampon acétone/Tris jusqu'à ce qu'un volume final soit 6 ml. L'absorbance des échantillons est enregistrée à 470 nm, 537 nm, 647 nm et 663 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible. La quantité en  $\mu\text{mol} / \text{gFW}$  de Chlorophylle a, Chlorophylle b et de caroténoïdes est calculée en utilisant les équations suivantes:

$$\text{Chla } (\mu\text{mol} / \text{gFW}) = ((0,01373 \times A_{663}) - (0,000897 \times A_{537}) - (0,003046 \times A_{647})) \times \text{Df} \times \text{W}$$

$$\text{Chlb } (\mu\text{mol} / \text{gFW}) = ((0,02405 \times A_{647} - 0,004305 \times A_{537} - 0,005507 \times A_{663})) \times \text{Df} \times \text{W}$$

$$\text{Caroténoïdes } (\mu\text{mol/gFW}) = ((A_{470} - (17,1 \times (\text{Chla} + \text{Chlb}) - 9,479 \times \text{antocianines})) / 119,26) \times \text{Df} \times \text{W}$$

$$\text{Avec: Antocianines} = 0,08173 \times A_{537} - 0,00697 \times A_{647} - 0,002228 \times A_{663};$$

$A_x$  est l'absorbance à une longueur d'onde x (nm);

Df signifie facteur de dilution (mL);

W représente le poids de la feuille (g).

### III.3.6. La teneur en Malondialdéhyde

La peroxydation lipidique est un facteur important qui indique les dommages causés aux plantes par les différents types de stress. La teneur en malondialdéhyde (MDA) est déterminée par la réaction de l'acide thiobarbiturique (TBA) (Dhindsa and Matowe 1981). Pour cela, des feuilles (environ 0,039 à 0,14 g) ont été homogénéisées avec 5 ml d'acide trichloroacétique (TCA) (0,1% poids / volume), puis centrifugées à 10000 g pendant 5 minutes. Un mélange de 1 ml du surnageant et de 4 ml de TCA à 20% (p / v) contenant 0,5% (p / v) de TBA a été chauffé pendant 30 minutes à 95 ° C puis rapidement refroidi dans un bain de glace pour



arrêter la réaction. Après centrifugation (10000 g pendant 10 min à 4 ° C), l'absorbance est mesurée à 532 et 600 nm (longueur d'onde utilisée pour soustraire l'absorption de lumière non spécifique). Le mélange de TCA/TBA et de H<sub>2</sub>O (4: 1) est utilisé comme blanc. La teneur en MDA est calculée en utilisant les formules suivantes et en fonction du coefficient d'extinction molaire de 155 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

$$\text{Abs (MDA)} = A_{532} - A_{600}$$

$$\text{MDA} = \frac{\text{Abs (MDA)}}{\epsilon} \times \frac{\text{CW} \times \text{Df}}{\text{W}} \times 100$$

Avec :

$\epsilon$  : coefficient d'extinction molaire de 155 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>

CW : largeur de la cuvette

Df : facteur de dilution

Abs (MDA) : valeur corrigée du MDA

### III.3.7. Dosage des ETM dans les plantes.

A la fin du test, les plantes d'*Eucalyptus* sont séparées en feuilles et racines et sèchées broyées dans un broyeur à mortier. Les échantillons ont par la suite été minéralisés afin de mettre en solution les éléments traces métalliques. L'extraction du métal a été effectuée par digestion de 100 mg du tissu végétal (feuilles et racines) avec du HNO<sub>3</sub> concentré et chauffé dans un bain de sable pendant 3h à 100-150°C, jusqu'à ce que le matériel végétal soit digéré. La solution obtenue après digestion du matériel végétal est filtrée avec un filtre de 0,45µm. Dans le cas où le matériel végétal n'est pas digéré, on ajoute 1ml de HCl concentré et on chauffe une autre fois jusqu'à digestion. Des échantillons blancs sont également préparés en suivant la même procédure de digestion (Figure 9). Les mesures des métaux ont été réalisées par ICP-MS (plasma à couplage inductif avec détecteur de spectrométrie de masse).

### III.3.8. Facteur de translocation et bioaccumulation

Les teneurs en métaux sont utilisées pour calculer les facteur de translocation (TF) et de bioaccumulation (BAF) (Wu et al. 2011; Ritesh et al. 2016). Ces deux facteurs sont exploités dans l'évaluation de l'habilité de la phytoextraction de la plante testée. En effet, le facteur de translocation est le rapport entre la concentration du métal dans les feuilles et sa concentration dans la racine de la plante. Cependant, le facteur de bioaccumulation (BAF) est calculé chez les feuilles et les racines, il s'agit du rapport entre la concentration du métal dans les tissus

végétaux (feuilles ou racines) et la concentration initiale du métal (Zayed et al. 1998). Ils sont calculés selon les équations suivantes :

$$TF = [\text{Métal}_{\text{feuille}}] / ([\text{Métal}_{\text{racine}}])$$

$$BAF_{\text{feuille}} = [\text{Métal}_{\text{feuille}}] / ([\text{Métal}_{\text{CS}}])$$

$$BAF_{\text{racine}} = [\text{Métal}_{\text{racine}}] / ([\text{Métal}_{\text{CS}}])$$

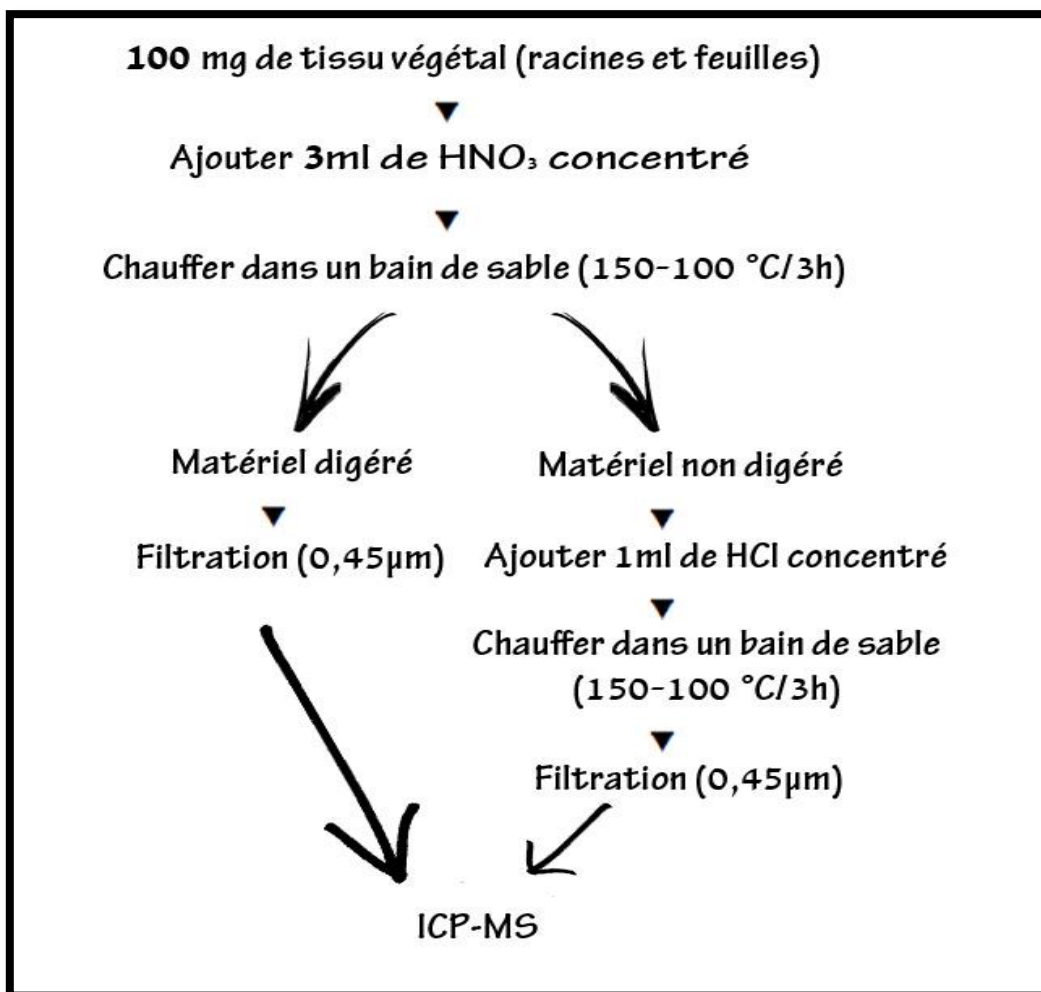


Figure 9 : Protocole d'extraction des métaux à partir des racines et des feuilles des plantes.

## IV. Effets des éléments traces métalliques sur l'orge et le maïs en présence des amendements organiques

### IV.1. Préparation des sols utilisés

Au cours de cette partie, le sol le plus contaminé de la mine de fer d'Aït Ammar et le sol de référence de ce site sont utilisés pour étudier la croissance de deux espèces végétales. De même, deux autres types sont utilisés comme des sols de référence pour ce test. Il s'agit du sol naturel prélevé de la forêt de khénifra (NS) et un substrat artificiel (Art) composé de la tourbe et le sable avec une proportion de 3:2. Le sable utilisé est lavé plusieurs fois par l'eau de robinet et par la suite par l'eau distillée. Ce sable est séché à l'air libre pendant quelques jours puis stérilisé trois fois (1 fois par jours) à 121 °C pendant 45 min.

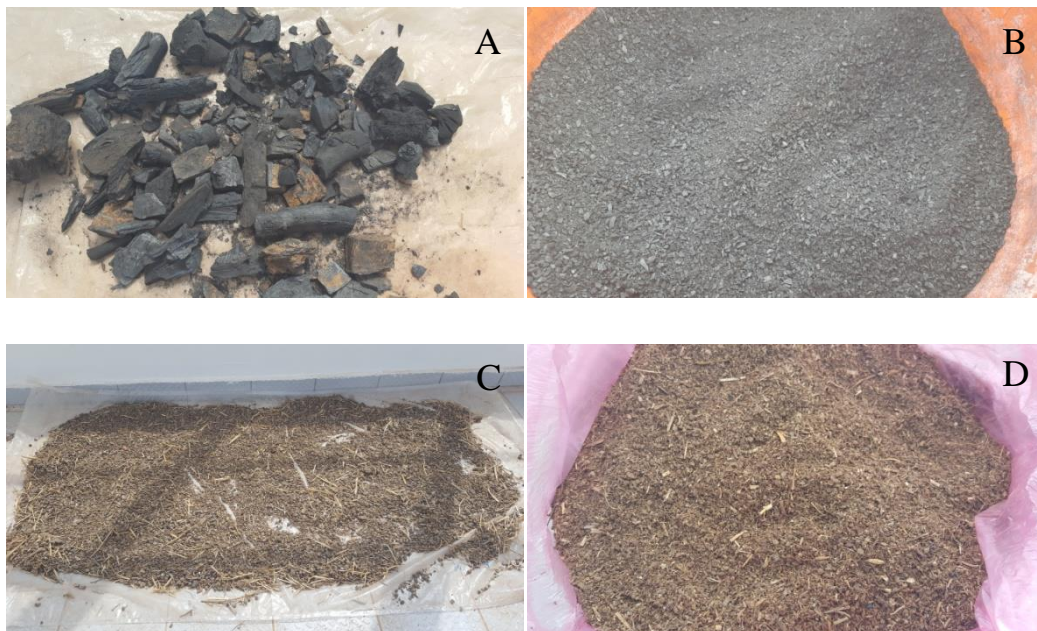


Figure 10: les amendements utilisés dans ce test: le biochar avant (A) et après (B) broyage et tamisage et les fumiers d'animaux avant (C) et après (D) broyage et tamisage à un tamis de 2 mm.

### IV.2. Traitement du sol et amendement organique

Dans cette expérience, deux types d'amendements organiques ont été utilisés : le charbon végétal (biochar) et les déchets organiques ou humus naturel (fumiers des animaux). Le biochar (B) a été préparé selon la méthode traditionnelle à partir de bois de conifères. Le biochar a été broyé finement puis passé à travers un tamis de 2 mm. Ce biochar a un pH égal à 8,47 et une conductivité électrique égale à  $706 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . De même, le fumier des animaux (H) qui provient des déchets de mouton, a été séché à l'air et tamisé au tamis de 2 mm (Figure 10).

Le sol de la mine de fer d'Ait Ammar a été soigneusement mélangé avec deux taux de biochar (2,5% et 5%) et deux taux d'humus naturel (10% et 20%). Aussi, quatre autres traitements ont été utilisés : le sol naturel (NS), le sol artificiel (Art), le sol de référence du site (REF) et le sol contaminé (CS) qu'aucun amendement n'a été ajouté. Les sols des 8 traitements ont été placés dans des pots en plastique de 9,5 et 6 cm de diamètre de haut et de bas respectivement et 10,5 cm de hauteur. Chaque pot est percé de trois petits trous dans le fond permettant l'irrigation des plantes. Ces pots sont ensuite placés dans des bassines sous formes de sacs en plastiques tapissés de papier aluminium pour mettre l'eau distillée utilisée pour l'irrigation. Chaque traitement a été répété trois fois et incubé à température ambiante pendant dix jours. Au cours de cette période, les pots ont été irrigués trois fois par semaine avec de l'eau distillée.

#### IV.3. Matériel végétal

Au cours de cette partie, nous avons utilisé les graines de deux espèces végétales (orge et maïs). Elles ont été trempées dans une solution de 1% d'hypochlorite de sodium, rincées avec de l'eau distillée puis immergées dans l'éthanol pendant 1 min. Par la suite, elles sont lavées avec de l'eau distillée et laissées imbibées pendant 2 heures dans de l'eau distillée.

#### IV.4. Conduite de la culture

Les graines préalablement désinfectées (8 graines d'orge et 5 graines de maïs) sont mises dans chacun des pots contenant les différents traitements (sol naturel, sol artificiel, sol de référence du site, sol le plus contaminé avec 0 amendements et quatre traitements (CS-B<sub>2,5</sub>, CS-B<sub>5</sub>, CS-H<sub>10</sub> et CS-B<sub>20</sub>). Après cinq jours de germination, 5 plantules d'orge et 3 plantules de maïs ont été conservés dans chaque pot avec 48 pots au total. Aucune solution nutritive n'a été ajoutée au cours de ce test. Tous les traitements ont été réalisés en trois répétitions et les pots sont disposés selon le plan d'expérimentation présenté dans la figure 11. Cette expérimentation a duré 30 jours dans les conditions environnementales normales.

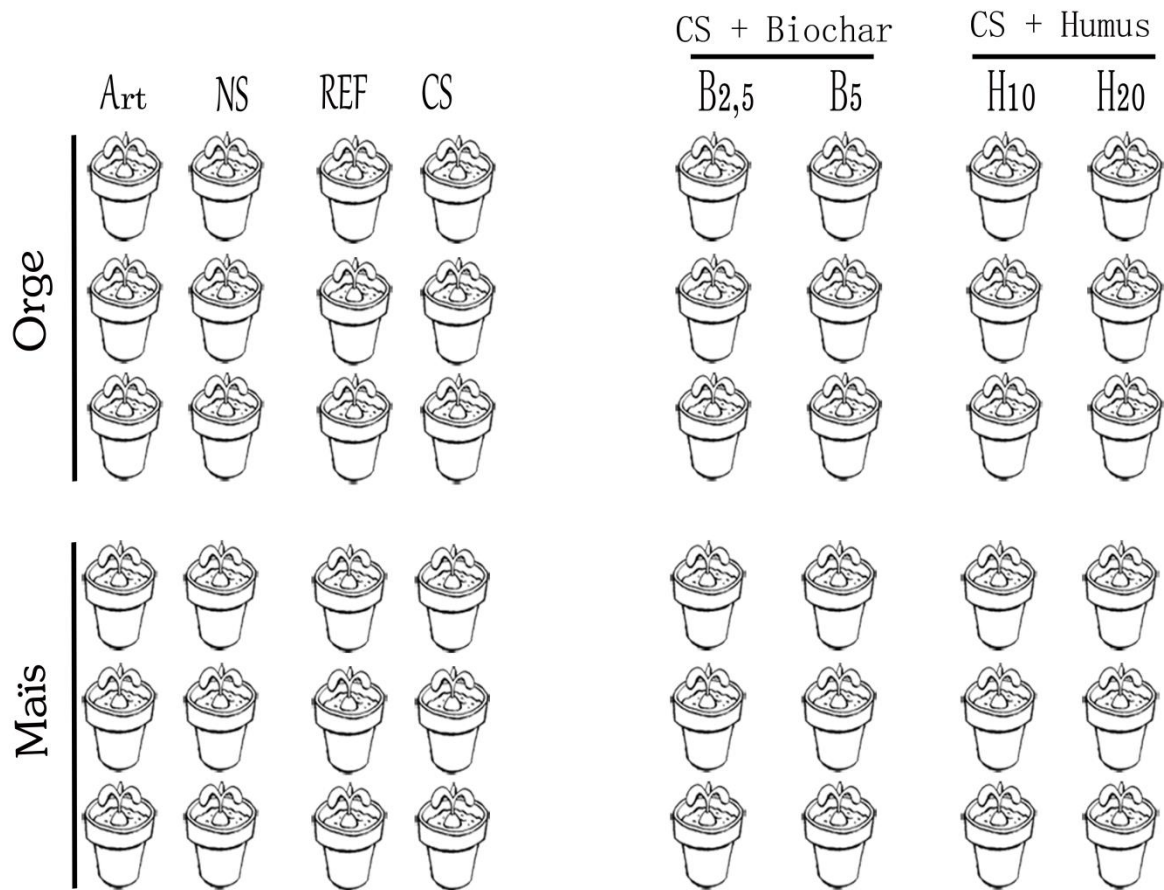


Figure 11: Dispositif de culture de l'orge et du maïs dans les différents traitements.  
 Art : substrat artificiel, NS : sol naturel, REF : sol de référence du site et CS : sol le plus contaminé, humus : fumier d'animaux. B<sub>2,5</sub> et B<sub>5</sub> concentrations de biochar utilisées à 2,5 et 5% respectivement. H<sub>10</sub> et H<sub>20</sub> concentrations de fumiers d'animaux utilisées à 10 et 20% respectivement.

#### IV.5. Mesure des paramètres morphologiques et physiologiques des plantes

La croissance des plantes a été mesurée après 30 jours à l'aide de plusieurs paramètres morphologiques : la longueur des tiges, la longueur des racines, le diamètre des tiges, la longueur totale des feuilles et la surface foliaire.

##### IV.5.1. Les paramètres de croissance:

La longueur de la plante est mesurée avec une règle à partir du point le plus bas de la tige visible au-dessus du niveau du sol jusqu'à son point le plus élevé. De même, la longueur des racines et des feuilles a été mesurée avec une règle. Concernant le diamètre de la tige, il est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

#### IV.5.2. La surface foliaire

Les feuilles sont soigneusement prélevées et photographiées avec une échelle métrique. Par la suite, cette image est traitée avec un logiciel pour déterminer la surface foliaire (ImageTool).

#### IV.5.3. Le poids frais et sec

Les biomasses des feuilles, de la tige et des racines ont été pesées avant et après passage à l'étuve à 105 °C pendant 48 h.

#### IV.5.4. La teneur relative en eau (RWC)

La teneur en eau des feuilles a été déterminée selon la méthode de Weatherly (1950). Après prélèvement de la feuille, le poids frais (FW) est enregistré directement. Par la suite, la feuille est immergée dans l'eau distillée pendant 24h puis le poids de turgescence (TW) est recordé. Finalement, le poids sec (DW) des feuilles turgescents a été mesuré après passage à 60 °C durant 72 h.

Les valeurs de RWC ont été calculées selon la formule suivante:

$$RWC (\%) = \frac{(FW \times DW)}{(TW \times DW)} \times 100$$

#### IV.5.5. La teneur en pigments : chlorophylle a, b et caroténoïde

Les teneurs en chlorophylles a et b et en caroténoïdes ont été quantifiées selon le protocole d'Arnon (1949). Un échantillon des feuilles fraîches (entre 0,25 et 0,5g) est coupé en petits morceaux et laissé pendant 24h à 4°C en présence de 80% d'acétone. Après, l'extrait est centrifugé à 4000 g pendant 10 min. L'absorbance des échantillons est enregistrée à 470 nm, 537 nm, 647 nm et 663 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible. La quantité en  $\mu\text{mol}$  / gFW de Chlorophylle a, Chlorophylle b et de caroténoïdes est calculée en utilisant les équations décrites par Sims and Gamon (2002):

Chlorophylle a ( $\mu\text{mol}$  / gFW) =  $((0,01373 \times A_{663}) - (0,000897 \times A_{537}) - (0,003046 \times A_{647})) \times Df \times W$

Chlorophylle b ( $\mu\text{mol}$  / gFW) =  $((0,02405 \times A_{647} - 0,004305 \times A_{537} - 0,005507 \times A_{663})) \times Df \times W$

Caroténoïdes ( $\mu\text{mol}$ /gFW) =  $((A_{470} - (17,1 \times (\text{Chla} + \text{Chlb}) - 9,479 \times \text{antocianines})) / 119,26) \times Df \times W$

Avec:

Antocianines =  $0,08173 \times A_{537} - 0,00697 \times A_{647} - 0,002228 \times A_{663}$ ;

$A_x$  est l'absorbance à une longueur d'onde x (nm);

Df signifie le facteur de dilution (mL);

W représente le poids de la feuille (g).

## *V. Analyses statistiques*

L'analyse de toutes les données ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS © Statistics pour Windows (IBM © Ver 20).

Germination : Les données relatives aux différents caractères biométriques ont été soumises à une analyse de variance à un seul facteur (concentration de l'élément métallique) et à une comparaison multiple des moyennes par le test de Tukey pour distinguer les groupes de traitements pour chaque variable (caractère).

Eucalyptus : Une analyse de variance à deux facteurs (ANOVA) a été réalisée pour déterminer les effets du «temps» et du «sol» sur les paramètres mesurés (surface foliaire, Fv / Fm, teneur en MDA, RWC et teneur des pigments). D'autre part, l'effet du sol et du temps sur la hauteur de la plante a été mesurée à l'aide d'une analyse de mesures répétées (RM) ANOVA et la comparaison des moyennes est faite par le test post-hoc de Tukey.

Amendements : les données obtenues ont été soumises à une analyse de variance à un facteur. Le teste de Tukey a été appliqué pour déterminer les différences entre les moyennes.

# *Résultats et Discussion*



*Chapitre 1 : Analyses physico-chimiques des sols  
étudiés*

## I. Caractérisation physicochimique

Les résultats de la caractérisation physico-chimique du sol de référence naturel qui provient de la région de Khénifra sont présentés dans le tableau 5. Ces résultats sont comparés avec trois sols naturels : le sol standard Européen (Lufa 2.2), le sol naturel du Portugal (PTRS1) et le sol de référence issu du site de mine de fer d'Ait Ammar. On constate que le sol de référence naturel étudié présente un pH neutre en comparaison avec les deux autres sols (Lufa 2.2 et PTRS1) qui ont un pH légèrement acide et le sol de référence d'Ait Ammar qui a un pH légèrement alcalin. Concernant la conductivité électrique, le sol de référence naturel présente une valeur comparable à celle du sol de référence d'Ait Ammar et plus faible que les valeurs des deux sols : Lufa 2.2 et PTRS1. D'autre part, le sol de référence étudié possède un pourcentage d'humidité de 4,8% et une teneur en matière organique de 4,94%. En fin, l'analyse granulométrique a révélé que le sol naturel testé est composé d'une fraction élevée de limon/ argile (75,4%) similaire à celle trouvée dans le sol de référence du site d'Ait Ammar. Selon le diagramme de texture (NF EN ISO 14688-2, 2005), notre sol est classé : Limon-Argileux-Sableux.

Tableau 5: Les caractéristiques physico-chimiques du sol de référence naturel, sol de référence du site d'Ait Ammar, PTRS1 et Lufa 2.2.

| Échantillon | pH <sub>eau</sub> | pH <sub>KCl</sub> | Conductivité        |  | MO          | Humidité | Limon / Argile | Sable |
|-------------|-------------------|-------------------|---------------------|--|-------------|----------|----------------|-------|
|             |                   |                   | mS cm <sup>-1</sup> |  |             |          |                |       |
| Sol naturel | 6,61±0,01         | 5,93 ±0,01        | 0,229 ± 0,003       |  | 4,94 ± 0,75 | 4,79     | 75,4           | 24,6  |
| REF*        | 7.97±0.0          | 7.14±0.02         | 0,161±0,007         |  | 4.52        | -        | 77,2           | -     |
| PTRS1**     | 5.91±0.01         | 4.31±0.02         | 4.86±0.23           |  | 6.5± 0.004  | -        | 26,19          | 46,99 |
| Lufa 2.2**  | 4.95±0.06         | 5.65±0.05         | 56.7±0.05           |  | 2.35± 0.01  | -        | 25,2           | 74,8  |

\* (Marques et al. 2014; Nouri et al. 2014) ; (REF : sol de référence du site d'Ait Ammar)

\*\* (Caetano et al. 2012) ; (PTRS1 : Sol naturel du Portugal)

## II. Caractérisation minéralogique

Les teneurs en éléments chimiques du sol naturel ont été déterminées par spectroscopie par diffraction des rayons X. Les résultats obtenus montrent des concentrations variables d'un élément à un autre (Tableau 6). En comparaison avec le sol de référence du site d'Ait Ammar,

on note que les teneurs du Cd ( $<2 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), du cuivre ( $15 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) et du chrome ( $83,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) sont inférieure à celles trouvées dans le sol de référence d'Ait d'Ammar ( $5,13 \text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $44,76 \text{ mg.kg}^{-1}$  et  $166,017 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respectivement). Par contre, les teneurs du zinc ( $323,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) et du plomb ( $47,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) sont plus élevées que les valeurs de ces éléments dans le sol de référence du site de mine (Zinc :  $155,37 \text{ mg.kg}^{-1}$  ; Plomb :  $0,917 \text{ mg.kg}^{-1}$ ).

Généralement, les teneurs moyennes de ces cinq éléments sont dans l'ordre croissant : sol naturel :  $\text{Cd} < \text{Cu} < \text{Pb} < \text{Cr} < \text{Zn}$  ; sol de référence du site :  $\text{Pb} < \text{Cd} < \text{Cu} < \text{Zn} < \text{Cr}$ .

D'autre part, l'étude minéralogique du sol naturel a montré la présence de plusieurs autres éléments à savoir l'As ( $11,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), le Co ( $33 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), le Mo ( $43,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), le Nb ( $48,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), Sr ( $61,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) et le Ni ( $66,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). D'autre part, le sol naturel contient de faibles pourcentages d'Oxyde d'éléments comme l'Oxyde de fer (9,65%), l'Oxyde de magnésium (1,41%) et l'Oxyde de calcium (1,41). De même, on note que d'autres éléments sont présents avec des concentrations trop faibles ( $<1\%$ ) comme le Dioxyde de titane, l'Oxyde de manganèse et le Pentoxyde de phosphore.

Tableau 6 : Les concentrations totales des ETM dans le sol de référence naturel.

| Élément Chimique       | Unités                         | Sol Naturel         |         |            | CV%      |      |
|------------------------|--------------------------------|---------------------|---------|------------|----------|------|
|                        |                                | Min                 | Max     | Moyenne    |          |      |
| Oxyde de fer           | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 8,02                | 11,31   | 9,65±1,6   | 17,10    |      |
| Oxyde de calcium       | CaO                            | 1,25                | 1,64    | 1,41±0,2   | 14,64    |      |
| Oxyde de magnésium     | MgO                            | 1,4                 | 1,56    | 1,47±0,1   | 5,49     |      |
| Oxyde de potassium     | K <sub>2</sub> O               | 0,83                | 1,03    | 0,94±0,1   | 10,80    |      |
| Dioxyde de titane      | TiO <sub>2</sub>               | 0,67                | 0,85    | 0,76±0,1   | 11,92    |      |
| Oxyde de manganèse     | MnO                            | 0,16                | 0,19    | 0,18±0,02  | 9,62     |      |
| pentoxyde de phosphore | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>  | 0,44                | 0,48    | 0,46±0,02  | 4,49     |      |
| Soufre                 | S                              | <0.0001             | <0.0001 | <0.0001    | -        |      |
| Arsenic                | As                             | 10                  | 13      | 11,3±1,5   | 13,48    |      |
| Cuivre                 | Cu                             | 12                  | 18      | 15±4,2     | 28,28    |      |
| Plomb                  | Pb                             | 41                  | 57      | 47,7±8,3   | 17,47    |      |
| Cobalt                 | Co                             | 31                  | 35      | 33±2,8     | 8,57     |      |
| Chrome                 | Cr                             | 69                  | 95      | 83,7±13,3  | 15,92    |      |
| Zinc                   | Zn                             | 297                 | 337     | 323,3±22,8 | 7,05     |      |
| Nickel                 | Ni                             | mg.kg <sup>-1</sup> | 64      | 71         | 66,7±3,8 | 5,68 |
| Lithium                | Li                             | 17                  | 18      | 17,3±0,6   | 3,33     |      |
| Germanium              | Ge                             | 24                  | 31      | 27,3±3,5   | 12,85    |      |
| Molybdène              | Mo                             | 31                  | 51      | 43,7±11    | 25,23    |      |
| Niobium                | Nb                             | 42                  | 54      | 48,7±6,1   | 12,56    |      |
| Étain                  | Sn                             | 29                  | 33      | 31±2       | 6,45     |      |
| Strontium              | Sr                             | 59                  | 65      | 61,7±3     | 4,95     |      |
| Cadmium                | Cd                             | <2                  | <2      | <2         | -        |      |
| Antimoine              | Sb                             | <32                 | <32     | <32        | -        |      |
| Béryllium              | Be                             | <0,2                | <0,2    | <0,2       | -        |      |
| Bismuth                | Bi                             | <20                 | <20     | <20        | -        |      |
| Sélénium               | Se                             | <40                 | <40     | <40        | -        |      |
| Tungstène              | W                              | <23                 | <23     | <23        | -        |      |
| Yttrium                | Y                              | <2                  | <2      | <2         | -        |      |

Le coefficient de variation est calculé en utilisant l'équation  $CV = (\text{Ecart type/moyenne}) \times 100\%$ .

### III. Discussion

Les résultats obtenus du pH au cours de notre étude montrent bien que le sol étudié est neutre. Généralement, le pH entre 6 et 8 est bénéfique pour la croissance des plantes sachant que la majorité des espèces végétales se développent bien dans cette marge de pH (Day and Ludeke 1993) et peu d'entre elles qui peuvent vivre dans des sols acides (Chen et al. 2015). La valeur de pH trouvée pour le sol de référence naturel étudié est presque similaire à celle trouvée par d'autres chercheurs pour des sols méditerranéens, arides et semi-arides (Anjos et al. 2012; Chen et al. 2015; Mamokete et al. 2017). Pour apprécier la réactivité du complexe argilo-humique, nous avons calculé la différence de pH dans l'eau et dans le chlorure de potassium

selon l'équation  $\Delta pH = pH_{KCl} - pH_{eau}$  (Huang et al. 2012). La valeur de  $\Delta pH$  obtenu est négatives (-0,68), ce qui indique une bonne rétention des cations d'intérêt agronomique dans le complexe adsorbant (capacité d'échange cationique) (Djondo 1995).

Concernant, la conductivité électrique qui mesure les sels dissouts dans une solution aqueuse et permet de déterminer la salinité des sols, on constate que le sol de référence étudié présente une valeur assez faible. Selon Shrivastava and Kumar (2015), un sol est considéré salin lorsque la conductivité électrique de ce sol dans les zones proches des racines est de  $4 \text{ dS m}^{-1}$  ( $4 \text{ mS cm}^{-1}$ ). Dans notre cas, la valeur de la conductivité obtenue est de  $0,229 \text{ mS cm}^{-1}$ , ce qui indique que notre sol de référence naturel n'est pas salin. Pour la matière organique, le sol de référence est considéré fertile avec une teneur proche de 5%. Cette teneur élevée de matière organique peut augmenter la disponibilité des nutriments pour la plante, favoriser l'activité microbienne dans le sol, améliorer la structure du sol et ses propriétés physiques et réduire la mobilité des ETM (Park et al., 2011; Rizwan et al., 2016a; Tang et al., 2016; Tan et al., 2017).

Les éléments traces dans le sol constituent un polluant majeur et qui peuvent menacer non seulement les plantes, les animaux, l'écosystème mais aussi toute l'humanité (Ali et al. 2013; Mahar et al. 2016). Cette menace est accentuée par leurs non biodégradabilité et leurs passages vers la chaîne alimentaire (Ali et al. 2013) d'où la nécessité d'une intervention urgente pour faire face à ce problème. Le site de mine de fer d'Ait Ammar est caractérisé par des teneurs élevées en métaux surtout le Cd, le Fe, le Cr et le Zn (Marques et al. 2014; Nouri and Haddioui 2016a). L'étude minéralogique menée sur le sol de référence naturel a montré que ce sol contient des éléments métalliques mais avec des teneurs inférieures à celles trouvées pour le sol contaminé. Caetano et al. (2012) ont conclu qu'un sol naturel ne présente pas d'influence sur les espèces testées concernant la mobilité et la biodisponibilité des polluants ce qui permet son utilisation dans les tests écotoxicologiques.

#### IV. Conclusion

Les résultats physico-chimiques et minéralogiques du sol naturel qui provient de la région de Khénifra montrent un pH neutre, proche de celle du sol contaminé (sol naturel : pH = 6,61 ; sol contaminé : pH = 6,51). La teneur en matière organique du sol naturel est assez élevée (4,94%) en comparaison avec le sol contaminé qui possède une teneur de 3,33. D'autre part, les concentrations des métaux de ce sol sont très hétérogènes mais en majorité inférieures à celles du sol de référence du mine de fer et du sol contaminé. Donc ce sol peut être utilisé dans les tests écotoxicologiques comme sol de référence pour le site de mine étudié.

*Chapitre 2 : Effet des éléments traces métalliques  
sur la germination des espèces végétales étudiées.*

## I. Effet des ETM sur les plantes cultivées en papier filtre.

Les données concernant cette partie nous ont permis d'entreprendre une analyse comparative entre les effets des trois éléments (Cd, Fe et Zn) sur la germination et les premiers stades de croissance de cinq espèces végétales : l'Orge (*Hordeum vulgare*), le Blé (*Triticum aestivum*), le Maïs (*Zea mays*), le Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) et le Haricot (*Phaseolus vulgaris*).

### I.1. Le pourcentage de germination des graines

#### ✓ *Hordeum vulgare* (Orge)

Les pourcentages de germination des graines de l'orge en présence du Cd, Fe et Zn sont présentés dans le tableau 7. Ces résultats montrent que l'augmentation des concentrations du Cd et du Fe a diminué significativement le pourcentage de germination de cette espèce ( $p = 0,000$ ). En effet, les concentrations élevées du Cd (1000mg Cd/L) et du Fe (750 et 1000 mg Fe/L) ont réduit significativement ce pourcentage de germination par rapport au témoin (0mg/L). Les deux concentrations 750 mg Fe/L et 1000mg Cd/L ont réduit ce pourcentage de germination jusqu'à 45% et la concentration 1000 mg/L de Fe a inhibée totalement la germination chez cette espèce (0,0%). Par contre, le Zn n'a pas d'effet sur la germination de cette espèce ( $p = 0,088$ ). Les résultats obtenus, indiquent que les différentes concentrations du Zn n'ont pas affecté le pourcentage de germination de l'orge.

#### ✓ *Triticum aestivum* (Blé)

L'analyse de variance montre une différence significative entre les concentrations utilisées pour les deux métaux Cd ( $F = 28,171$ ,  $p = 0,000$ ) et Fe ( $F = 15,480$  ;  $p = 0,000$ ) (tableau 7). Pour le Cd, on note que les concentrations entre 10 et 250 mg / L ne présentent aucun effet significatif sur la germination du blé (test de Tukey,  $p > 0,05$ ). Cependant, ce pourcentage a été réduit significativement lorsque les concentrations appliquées sont supérieures à 250 mg Cd/L ( $p = 0,000$ ) et atteint 42,5%, 32,5% et 2,5% en présence de 500, 750 et 1000mg Cd/L, respectivement. Pour le Fe, on constate que le stress induit par cet élément est observé lorsque les concentrations atteignent 750 et 1000 mg/L. Ces deux concentrations affectent significativement la germination du blé puisque le pourcentage de germination a diminué jusqu'à 55% et 37,5% pour 750 et 1000 mg / L, respectivement. Cependant, pour le Zn on observe qu'il n'y a pas de différence significative entre les concentrations. Le pourcentage de germination du blé n'est pas affecté même dans le cas des concentrations élevées.

✓ *Zea mays* (Maïs)

L'augmentation de la concentration des deux éléments Cd et Fe a diminué significativement le pourcentage de germination de cette espèce ( $p = 0,000$ ). Pour le Cd, le pourcentage de germination diminue jusqu'à 50% pour la concentration 500 mg/L et 25% pour la concentration 1000mg Cd/L. Concernant le Fe, l'effet négatif est observé surtout pour la concentration la plus élevée (1000mg Fe/L). Cependant, le pourcentage de germination de cette espèce est peu altéré en présence du Zn.

✓ *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec)

L'analyse de variance ont révélé que les variations du pourcentage de germination produites par les concentrations du Cd et du Fe sont significatives (Tableau 7). Pour les deux éléments, on constate que la germination est peu altérée en présence de faibles concentrations, mais à partir de 250 mg/L on note un effet inhibiteur de ce paramètre. Contrairement à ces deux métaux, les résultats obtenus pour le Zn révèlent qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes concentrations.

✓ *Phaseolus vulgaris* (Haricot)

Concernant le haricot, nous constatons que seule le cadmium qui a induit un effet significatif sur le pourcentage de germination ( $F = 8,845$ ,  $p = 0,000$ ). La présence de forte concentration (1000mg Cd/L) entraîne une baisse très importante. Cependant, on note que pour les deux autres éléments (Fe et Zn) le pourcentage de germination est peu altéré même dans le cas des concentrations les plus élevées.

En résumé, les résultats obtenus pour l'effet des trois métaux (Cd, Fe et Zn) sur la germination des graines des cinq espèces étudiées ont montré une réponse variable vis-à-vis du métal utilisé et la concentration appliquée. D'une façon générale, le cadmium a montré l'effet le plus toxique sur le taux de germination des graines. L'augmentation de la concentration de ce métal produit une forte diminution de la germination chez les cinq espèces avec une légère résistance des deux espèces : orge et haricot. Concernant le Fe, on note que la germination de l'orge a été altérée à partir de 750 mg Fe/L, alors que seulement la concentration maximale (1000 mg Fe/L) a diminué la germination du blé, du maïs et du fenugrec. Cependant, on note que ce métal n'a pas d'effet sur la germination du haricot. Contrairement aux deux autres éléments, les résultats obtenus pour le Zn n'ont pas révélé un effet significatif de ce dernier sur la germination de l'ensemble des espèces étudiées.



## I.2. Longueur des racines et des tiges des jeunes plantules

### ✓ *Hordeum vulgare* (Orge)

Les résultats de l'effet des ETM sur la longueur des racines et des tiges de l'orge sont présentés dans la figure 12 (A, B et C). On constate que l'augmentation de la concentration des trois métaux entraîne une baisse de la longueur des racines et des tiges. D'autre part, la comparaison de l'effet des trois métaux montre que ces deux paramètres sont surtout altérés en présence du Cd et cette inhibition est accentuée dans le cas des racines. Cependant, on note que pour le Fe, l'inhibition n'est observé qu'à partir de la concentration 500 mg/L pour les racines et 750 mg/L pour les tiges. Concernant le Zn, l'inhibition de la longueur des racines et des tiges n'est observée qu'en présence de la forte concentration (1000 mg / L).

### ✓ *Triticum aestivum* (Blé)

Selon la figure 12 (D, E et F), nous constatons que les métaux utilisés agissent selon leurs natures et leurs concentrations sur la longueur des racines et des tiges du blé. On note qu'en présence du Cd les valeurs de ces deux paramètres sont inférieures à ceux des plantes stressées par le Fe ou le Zn. La longueur des racines et des tiges se trouve inhibée à partir de faibles concentrations de Cd (50 mg/L). Par contre, pour le Fe et le Zn l'inhibition n'est observée qu'à partir des fortes doses ( $\geq 500$  mg/L). D'autre part, on note que la longueur des tiges se trouve stimuler en présence de faibles concentrations (10 mg /L pour le Cd) et les racines en présence de 10, 50 et 100 mg /L de Zn.

### ✓ *Zea mays* (Maïs)

La figure 13 (A, B et C) révèle que la longueur des racines et des tiges varie en fonction de la nature des éléments métalliques. L'effet le plus prononcé est observé pour le Cd où les deux paramètres sont affectés à partir de 50mg Cd/L. Par contre, les effets inhibiteurs du Fe et du Zn ne deviennent significatifs qu'avec les concentrations élevées (750 et 1000 mg /L). En plus, la longueur des racines et des tiges se trouve stimulée en présence de faibles concentrations de ces deux éléments.

Tableau 7: Effets des métaux (Cd, Fe et Zn) sur le taux de germination des graines.

Les résultats sont exprimés en moyenne de quatre répétitions  $\pm$  l'écart type. Différentes lettres minuscules montrent des différences significatives des concentrations appliquées sur le pourcentage de germination ( $p \leq 0,05$ ).

| Traitement | Concentration (mg/L) | Plantes monocotylédones |                          |                   | Plantes dicotylédones            |                           |                  |
|------------|----------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------|----------------------------------|---------------------------|------------------|
|            |                      | <i>Hordeum vulgare</i>  | <i>Triticum aestivum</i> | <i>Zea mays</i>   | <i>Trigonella foenum-graecum</i> | <i>Phaseolus vulgaris</i> |                  |
|            |                      | Germination (%)         | Germination (%)          | Germination (%)   | Germination (%)                  | Germination (%)           |                  |
| Contrôle   | 0                    | 97,5 $\pm$ 5,0ab        | 100 $\pm$ 0,0a           | 100 $\pm$ 0,0a    | 100 $\pm$ 0,0a                   | 80,0 $\pm$ 0,0a           |                  |
|            | 10                   | 95,0 $\pm$ 0,0ab        | 90,0 $\pm$ 0,0a          | 87,5 $\pm$ 9,6ab  | 100 $\pm$ 0,0a                   | 85,0 $\pm$ 5,7a           |                  |
|            | 50                   | 97,5 $\pm$ 5,0ab        | 82,5 $\pm$ 5,0a          | 77,5 $\pm$ 9,6bc  | 100 $\pm$ 0,0a                   | 92,5 $\pm$ 9,5a           |                  |
|            | 100                  | 100 $\pm$ 0,0a          | 92,5 $\pm$ 9,5a          | 77,5 $\pm$ 5,0bc  | 100 $\pm$ 0,0a                   | 80,0 $\pm$ 0,0a           |                  |
|            | Cd                   | 250                     | 100 $\pm$ 0,0a           | 90,0 $\pm$ 14,1a  | 62,5 $\pm$ 9,6cd                 | 75,0 $\pm$ 19,1b          | 77,5 $\pm$ 12,5a |
|            |                      | 500                     | 87,5 $\pm$ 9,5ab         | 42,5 $\pm$ 23,6b  | 45 $\pm$ 10,0de                  | 30,0 $\pm$ 16,3c          | 75,0 $\pm$ 10,0a |
|            |                      | 750                     | 75,0 $\pm$ 20,8b         | 32,5 $\pm$ 17,0bc | 30 $\pm$ 8,2ef                   | 22,5 $\pm$ 12,5cd         | 72,5 $\pm$ 9,5a  |
|            |                      | 1000                    | 45,0 $\pm$ 10,0c         | 2,5 $\pm$ 5,0c    | 25 $\pm$ 5,8f                    | 0,0 $\pm$ 0,0d            | 40,0 $\pm$ 18,2b |
| Fe         | 10                   | 90,0 $\pm$ 11,5a        | 100 $\pm$ 0,0a           | 92,5 $\pm$ 9,6a   | 95,0 $\pm$ 10,0ab                | 92,5 $\pm$ 9,5a           |                  |
|            | 50                   | 82,5 $\pm$ 12,5ab       | 100 $\pm$ 0,0a           | 92,5 $\pm$ 9,6a   | 97,0 $\pm$ 5,0ab                 | 85,0 $\pm$ 12,9a          |                  |
|            | 100                  | 90,0 $\pm$ 14,1a        | 100 $\pm$ 0,0a           | 97,5 $\pm$ 5,0a   | 97,0 $\pm$ 5,0ab                 | 97,0 $\pm$ 5,0a           |                  |
|            | 250                  | 90,0 $\pm$ 11,5a        | 100 $\pm$ 0,0a           | 87,5 $\pm$ 5,0ab  | 92,5 $\pm$ 15,0ab                | 92,5 $\pm$ 15,0a          |                  |
|            | 500                  | 65,0 $\pm$ 34,1ab       | 100 $\pm$ 0,0a           | 82,5 $\pm$ 9,6ab  | 77,50 $\pm$ 15,0bc               | 97,0 $\pm$ 5,0a           |                  |
|            | 750                  | 45,0 $\pm$ 23,8b        | 55,0 $\pm$ 0,0b          | 72,5 $\pm$ 9,6b   | 57,5 $\pm$ 22,2cd                | 100 $\pm$ 0,0a            |                  |
|            | 1000                 | 0,0 $\pm$ 0,0c          | 37,5 $\pm$ 22,2b         | 45 $\pm$ 10,0c    | 22,50 $\pm$ 12,6d                | 82,5 $\pm$ 17,0a          |                  |
|            | Zn                   | 10                      | 92,5 $\pm$ 9,5a          | 100 $\pm$ 0,0a    | 100 $\pm$ 0,0a                   | 97,0 $\pm$ 5,0a           | 72,5 $\pm$ 9,5a  |
| 50         |                      | 90,0 $\pm$ 8,1a         | 100 $\pm$ 0,0a           | 92,5 $\pm$ 9,6a   | 100 $\pm$ 0,0a                   | 90,0 $\pm$ 20,0a          |                  |
| 100        |                      | 100 $\pm$ 0,0a          | 100 $\pm$ 0,0a           | 95 $\pm$ 5,8a     | 100 $\pm$ 0,0a                   | 77,5 $\pm$ 18,9a          |                  |
| 250        |                      | 100 $\pm$ 0,0a          | 100 $\pm$ 0,0a           | 90 $\pm$ 14,9a    | 100 $\pm$ 0,0a                   | 85,0 $\pm$ 12,9a          |                  |
| 500        |                      | 100 $\pm$ 0,0a          | 100 $\pm$ 0,0a           | 85 $\pm$ 5,6a     | 100 $\pm$ 0,0a                   | 90,0 $\pm$ 14,1a          |                  |
| 750        |                      | 92,5 $\pm$ 9,5a         | 100 $\pm$ 0,0a           | 87,5 $\pm$ 9,6a   | 100 $\pm$ 0,0a                   | 80,0 $\pm$ 27,0a          |                  |
| 1000       |                      | 100 $\pm$ 0,0a          | 95,0 $\pm$ 10,0a         | 82,5 $\pm$ 5a     | 100 $\pm$ 0,0a                   | 92,5 $\pm$ 5,0a           |                  |

✓ *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec)

Les valeurs des longueurs des racines et des tiges chez le fenugrec montrent que les métaux Cd, Fe et Zn ont exercé des effets différents sur ces deux paramètres (Figure 13 -D, E et F). Contrairement au Cd qui induit des inhibitions significatives à partir de faibles concentrations (50mg/L), les deux autres métaux (Fe et Zn) n'affectent ces deux paramètres qu'en présence de fortes concentrations (500, 750 et 1000 mg /L).

✓ *Phaseolus vulgaris* (Haricot)

L'impact des différentes concentrations des trois métaux étudiés (Cd, Fe et Zn) sur la longueur des racines et des tiges du haricot est présenté dans la figure 14. Ainsi, une diminution de ces deux paramètres est notée en rapport avec l'augmentation des concentrations du Cd. Cependant, on note que l'augmentation des concentrations du Fe et du Zn n'a pas d'effet sur la longueur des racines et des tiges de cette espèce.

Donc on note que les cinq espèces étudiées ont réagi différemment à l'effet des ETM. Les résultats montrent que la longueur des racines et des tiges des espèces étudiées sont réduits en présence du Cd dès la concentration 50 mg/L (à l'exception du haricot). Cependant, l'effet du Fe et du Zn sur la croissance des racines et les tiges est observé à partir de 500 mg/L pour la majorité des espèces étudiées. Ces résultats ont permis de classer la toxicité de ces éléments sur les racines et les tiges des cinq espèces étudiées selon l'ordre Cd> Fe> Zn.

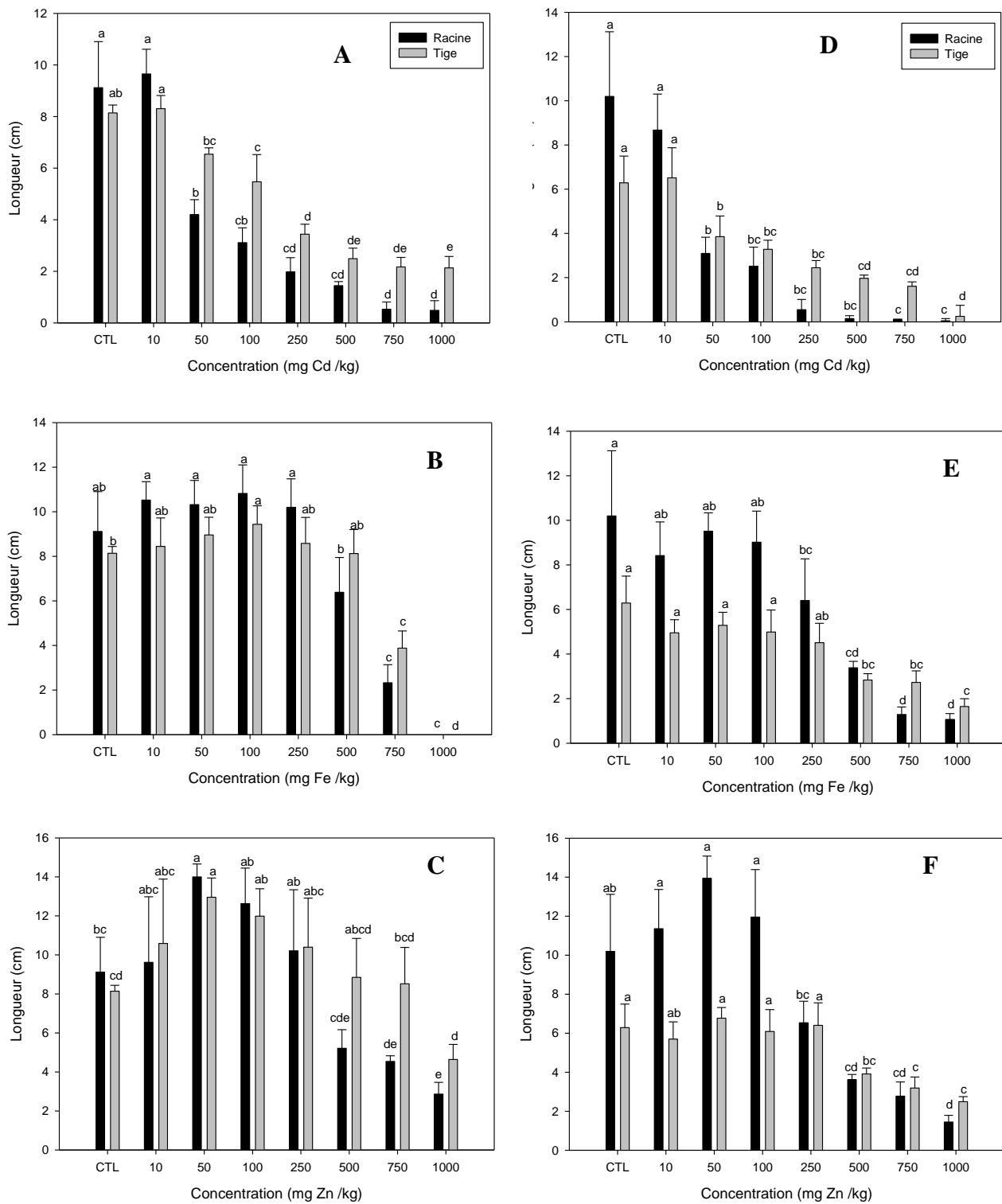


Figure 12: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) de l'orge (A, B et C) et du blé (D, E et F) en présence du Cd, Fe et Zn. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives des concentrations appliquées sur la longueur des racines et des tiges ( $p \leq 0,05$ ).

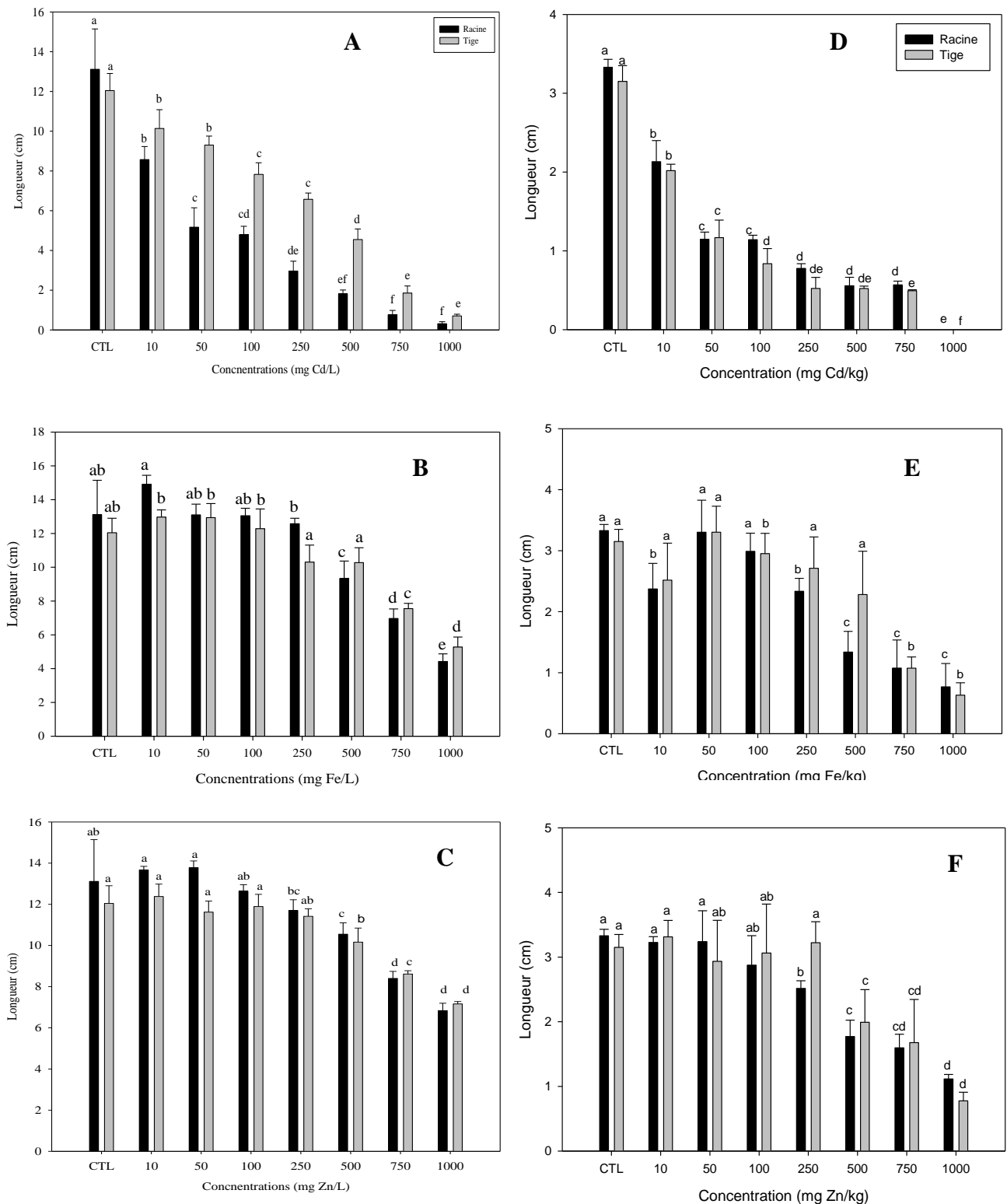


Figure 13: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) du maïs (A, B et C) et du fenugrec (D, E et F) en présence du Cd, du Fe et Zn. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives des concentrations appliquées sur la longueur des racines et des tiges ( $p < 0,05$ ).

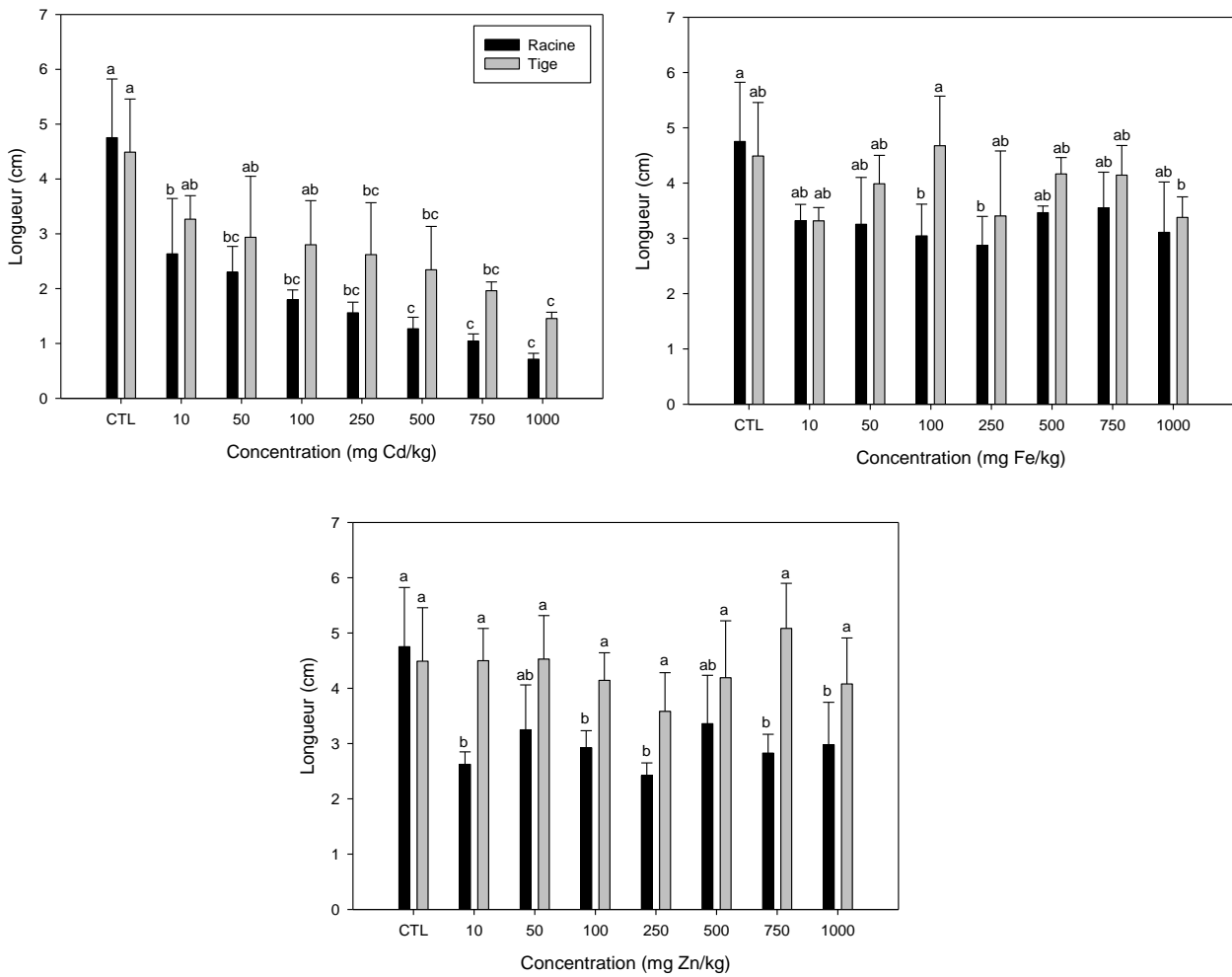


Figure 14: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) du haricot en présence du Cd, du Fe et du Zn.

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives des concentrations appliquées sur la longueur des racines et des tiges ( $p < 0,05$ ).

### I.3. L'indice de tolérance

#### ✓ *Hordeum vulgare* (Orge)

On constate que chez l'orge, le Cd a provoqué une diminution de l'indice de tolérance à partir de la concentration 50mg/L (Figure 15A). Cependant, pour le Fe et le Zn la diminution de cet indice n'est significative que pour les doses les plus élevées (500, 750 et 1000 mg/L). Tandis que les faibles concentrations du fer et du zinc (10, 50, 100 et 250 mg/L) ont provoqué une augmentation de cet indice par rapport au témoin.

✓ *Triticum aestivum* (Blé)

Les résultats obtenus chez le blé sont presque similaires à ceux observés chez l'orge (Figure 15 B). On constate une nette diminution de l'indice de tolérance en présence du Cd à partir 50 mg/L. Cet indice diminue de 96,4% pour la dose de 10 mg/L à 35,15% pour la dose 50 mg/L. Cependant, l'exposition des plantes aux Fe et Zn n'a montré une diminution de cet indice qu'à partir des fortes concentrations (250-1000 mg /L). D'autre part, on note que les faibles concentrations du Zn (10, 50 et 100 mg/L) ont provoqué une augmentation de cet indice, alors qu'en présence des mêmes concentrations du Fe les valeurs de l'indice de tolérance restent proches de celle du témoin.

✓ *Zea mays* (Maïs)

Parmi les trois éléments testés, c'est le Cadmium qui a induit une nette diminution de l'indice de tolérance chez le maïs suivi par le Fer puis le Zinc (Figure 15 C). Cette diminution est plus importante en présence des concentrations les plus élevées de Cd (500, 750 et 1000 mg /L). Concernant le Fe, la faible valeur de cet indice est observée en présence de 1000 mg/L (34%). Cependant, l'analyse statistique n'a pas montré d'effet significatif de l'indice de tolérance du maïs en présence du Zn.

✓ *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec)

Comme dans le cas des espèces précédentes, l'indice de tolérance du fenugrec a diminué significativement en présence du Cd même pour les concentrations les plus faibles (Figure 15 D). D'autre part, les deux autres éléments Fe et Zn n'ont provoqué une diminution de ce paramètre que lorsque les concentrations sont supérieures à 250 mg/L.

✓ *Phaseolus vulgaris* (Haricot)

La figure 15 E montre que la diminution de l'indice de tolérance du haricot est surtout observée dans le cas du Cd. L'augmentation des concentrations de ce métal a réduit les valeurs de cet indice de 57,14% (10 mg/L) à 23,72% (1000 mg/L). Alors que, dans le cas du Fe et du Zn, la valeur de l'indice de tolérance du haricot reste supérieure à 50% en comparaison avec le témoin même en présence de fortes concentrations.

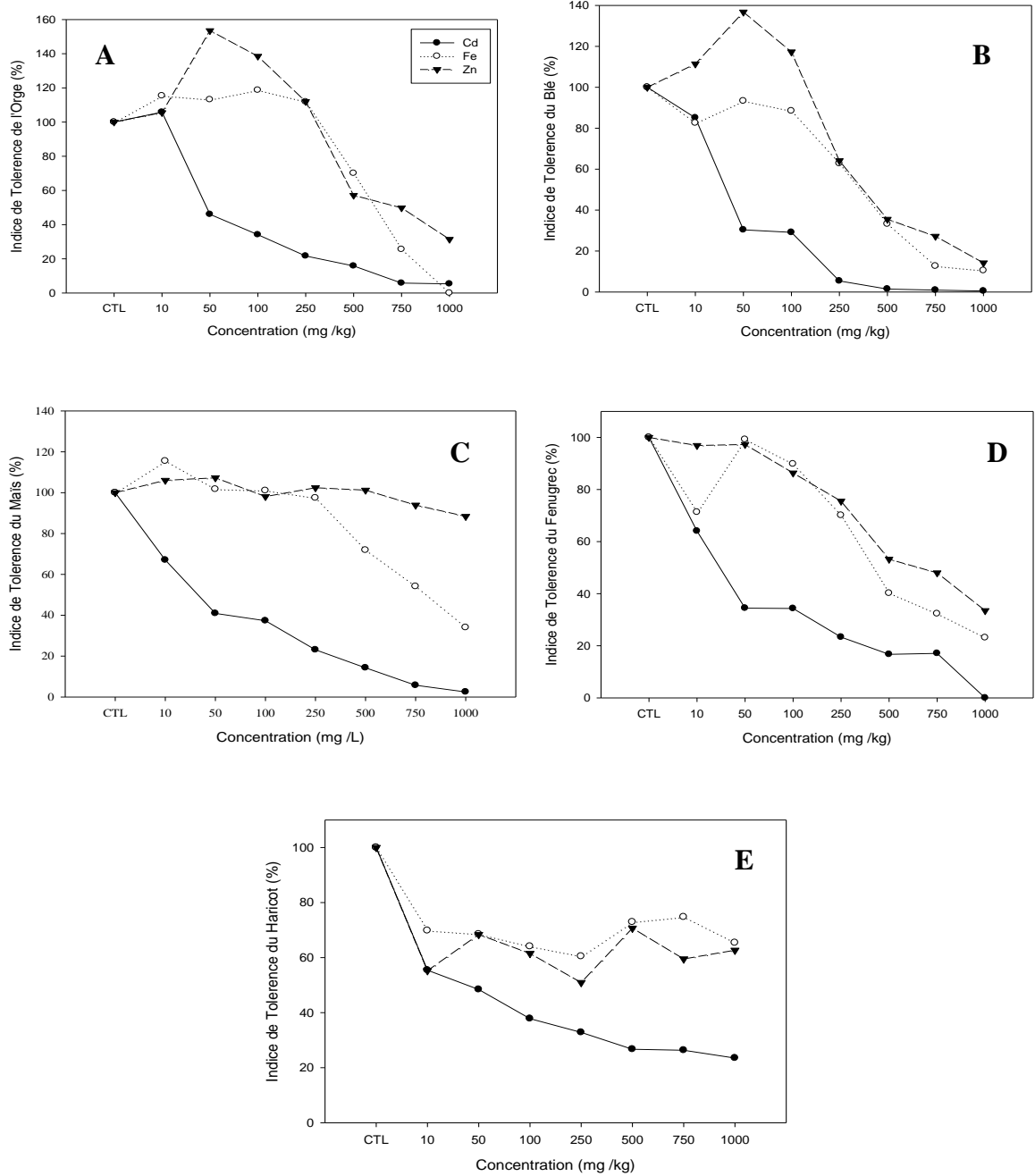


Figure 15: Effet des trois métaux (Cd, Fe et Zn) sur l'indice de tolérance de l'orge (A), du blé (B), du maïs (C), du fenugrec (D) et du haricot (E).



## II. Effet des ETM sur la germination des graines dans le sol Luffa 2.2.

### II.1. Le taux de germination des graines

Le tableau 8 présente les résultats du pourcentage de germination des graines de trois espèces végétales *H. vulgare*, *Z. mays* et *T. foenum-graecum* germés dans le sol Luffa 2.2 en présence du Cd, Fe et Zn.

#### ✓ *Hordeum vulgare* (Orge)

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 8, il en résulte que la présence des trois éléments Cd, Fe et Zn dans le milieu de culture n'a pas induit une diminution du pourcentage de germination de cette espèce. Nous remarquons que même dans le cas des fortes concentrations, le pourcentage de germination reste élevé.

#### ✓ *Zea mays* (Maïs)

Concernant le maïs, le Cd est le seul élément qui a affecté significativement le pourcentage de germination ( $p=0,026$ ). La concentration maximale (1000 mg/kg) a diminué la germination du Maïs de 50% en comparaison avec le témoin. Cependant, les deux autres éléments (Fe et Zn) n'ont pas d'effet sur ce pourcentage même quand des doses élevées sont appliquées (75 à 100% pour le Fer et 72,5 à 97,5% pour le Zn).

#### ✓ *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec)

Les résultats obtenus pour cette espèce sont similaires à ceux observés pour le maïs. Le Cd a diminué significativement le pourcentage de germination du fenugrec surtout en présence de la concentration 1000mg/kg (seulement 37,5% des graines qui ont germées). Alors que, le Fe et le Zn n'ont pas d'effet significatif sur la germination de cette espèce même en présence des fortes concentrations 750 et 1000 mg/kg où le nombre de graines germées reste élevé (Fe : 92,5 - 97,5%, et Zn : 87,5 - 85%).

Généralement, nos résultats indiquent que le pourcentage de germination des trois espèces cultivées sur sol Luffa 2.2 varie selon l'espèce, le métal utilisé et les doses appliquées. Le Cd a montré une forte toxicité par rapport aux autres éléments. Tandis que, le Fe et le Zn n'ont pas d'effet sur ce paramètre. D'autre part, les espèces étudiées ont réagi différemment vis-à-vis aux éléments testés. Dans notre expérience, l'orge a montré une importante résistance au Cd suivi par le maïs et le fenugrec.

Tableau 8: le pourcentage de germination des graines germées dans le Lufa 2.2 en présence des différentes concentrations du Cd, Fe et Zn.

Les résultats sont exprimés en moyenne de quatre répétitions  $\pm$  l'écart type. Différentes lettres minuscules montrent des différences significatives des concentrations appliquées sur le pourcentage de germination ( $p \leq 0,05$ ).

| Traitement | Concentration (mg/kg) | Orge            | Maïs              | Fenugrec          |
|------------|-----------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
|            |                       | Germination (%) | Germination (%)   | Germination (%)   |
| Cd         | Témoin                | 100 $\pm$ 0,0a  | 87,5 $\pm$ 25,0a  | 97,0 $\pm$ 5,0a   |
|            | 10                    | 100 $\pm$ 0,0a  | 62,5 $\pm$ 20,6ab | 97,0 $\pm$ 5,0a   |
|            | 50                    | 100 $\pm$ 0,0a  | 75 $\pm$ 17,3ab   | 97,0 $\pm$ 5,0a   |
|            | 100                   | 100 $\pm$ 0,0a  | 67,5 $\pm$ 17,1ab | 97,0 $\pm$ 5,0a   |
|            | 250                   | 95 $\pm$ 10,0a  | 72,5 $\pm$ 17,6ab | 97,0 $\pm$ 5,0a   |
|            | 500                   | 100 $\pm$ 0,0a  | 67,5 $\pm$ 17,2ab | 80 $\pm$ 14,1ab   |
|            | 750                   | 95 $\pm$ 5,8a   | 60 $\pm$ 14,1ab   | 72,5 $\pm$ 5,0bc  |
|            | 1000                  | 97,5 $\pm$ 5,0a | 40 $\pm$ 14,1b    | 37,5 $\pm$ 27,5c  |
| Fe         | 10                    | 100 $\pm$ 0,0a  | 100 $\pm$ 0,0a    | 92,5 $\pm$ 9,6a   |
|            | 50                    | 95 $\pm$ 10,0a  | 75 $\pm$ 25,2a    | 95,0 $\pm$ 10,0a  |
|            | 100                   | 100 $\pm$ 0,0a  | 100 $\pm$ 0,0a    | 85,0 $\pm$ 19,1a  |
|            | 250                   | 95 $\pm$ 10,0a  | 92,5 $\pm$ 9,6a   | 97,5 $\pm$ 5,0a   |
|            | 500                   | 85 $\pm$ 12,9a  | 92,5 $\pm$ 9,6a   | 97,5 $\pm$ 5,0a   |
|            | 750                   | 100 $\pm$ 0,0a  | 80 $\pm$ 8,2a     | 92,5 $\pm$ 15,0a  |
|            | 1000                  | 100 $\pm$ 0,0a  | 82,5 $\pm$ 20,6a  | 97,5 $\pm$ 5,0a   |
|            | Zn                    | 10              | 100 $\pm$ 0,0a    | 72,5 $\pm$ 20,6a  |
| 50         |                       | 95 $\pm$ 5,8a   | 97,5 $\pm$ 5,0a   | 92,50 $\pm$ 5,0a  |
| 100        |                       | 95 $\pm$ 10,0a  | 97,5 $\pm$ 5,0a   | 92,50 $\pm$ 5,0a  |
| 250        |                       | 95 $\pm$ 10,0a  | 90 $\pm$ 14,1a    | 97,50 $\pm$ 5,0a  |
| 500        |                       | 97,5 $\pm$ 5,0a | 70 $\pm$ 16,3a    | 95,00 $\pm$ 5,7a  |
| 750        |                       | 100 $\pm$ 0,0a  | 97,5 $\pm$ 5,0a   | 87,50 $\pm$ 9,6a  |
| 1000       |                       | 97,5 $\pm$ 5,0a | 95 $\pm$ 10,0a    | 85,00 $\pm$ 12,9a |

## II.2. La longueur des racines et des tiges

Les résultats obtenus relatifs à la longueur des racines et des tiges de l'orge, du maïs, et du fenugrec sont présentés dans la figure 16 et la figure 17.

### ✓ *Hordeum vulgare* (Orge)

La figure 16 (A, B et C) montre que chez l'orge, la longueur des racines et des tiges sont réduites significativement sous l'effet du Cd à partir du 500mg/kg pour les racines (4,17cm) et les tiges (4,92cm). On note également que les faibles concentrations (10 et 50 mg/kg) du Cd ont provoqué une augmentation de la longueur des racines (7,35 cm et 7,50 cm, respectivement). De même, le Fe a provoqué une diminution significative de ces deux paramètres. Pour le Zn, on constate que l'augmentation de la concentration réduit surtout la

longueur des racines. Par contre, les faibles concentrations 50, 100, 250 et 500 mg/kg ont provoqué une augmentation de la longueur des racines de l'orge.

✓ *Zea mays* (Maïs)

Selon les résultats mentionnés dans la figure 16 (D, E et F), il en résulte que la présence du Cd dans le milieu de culture induit une diminution significative des racines. Les concentrations supérieures de 500 mg/kg ont provoqué une inhibition importante des racines jusqu'à 3cm (3,77 cm et 3,13cm pour 750 mg/kg et 1000 mg/kg, respectivement), mais cette diminution n'est pas significative pour les tiges. Le même résultat a été observé avec l'application du Fe. On constate une nette inhibition des racines dans le cas de fortes concentrations. De même, on observe qu'il y a une augmentation de la longueur des racines avec les faibles concentrations 10 et 100 mg/kg (12,68cm et 13,72 cm respectivement) par rapport au témoin. Cependant, aucune différence significative n'apparaît dans le cas du Zn.

✓ *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec)

De même que pour les autres espèces, les deux paramètres (racine et tige) du fenugrec sont affectés significativement en présence du Cd dans le milieu de culture (Figure 17). On note une nette réduction des racines pour la concentration 1000mg/kg (0,16 cm) en comparaison avec le témoin (2,09cm). De même, on observe une inhibition de la croissance des tiges (0,97 cm pour la concentration 1000 mg/kg) par rapport au témoin (3,22 cm). Pour le Zn, la présence de ce métal provoque également une diminution de la croissance des plantes. D'une manière générale, les racines sont plus affectées que les tiges. Cependant, on constate qu'il n'y pas d'effet du Fe sur la croissance des racines et des tiges.

D'une façon générale et pour les trois espèces végétales étudiées, on note que les paramètres de croissance sont plus affectés par le Cd que par les deux autres métaux (Fe et Zn). D'autre part, on constate également des différences entre les espèces étudiées vis-à-vis de la tolérance aux ETM. C'est le maïs qui a montré un niveau de tolérance suivi par l'orge et enfin le fenugrec.

### II.3. L'indice de tolérance

L'indice de tolérance des trois espèces végétales cultivées en présence des ETM est présenté dans la figure 18.

✓ *Hordeum vulgare* (Orge)

Les résultats obtenus montrent que le cadmium a inhibé fortement l'indice de tolérance chez l'orge. Les concentrations les plus élevées (500, 750 et 1000 mg/kg) ont provoqué une

inhibition hautement significative en comparaison avec le témoin. Le même résultat a été observé pour les deux autres éléments (Fe et Zn), on constate une nette diminution de ce paramètre en présence de fortes concentrations (à l'exception du fenugrec pour le cas du Fe).

✓ *Zea mays* (Maïs)

On constate que le Cd a provoqué une diminution de l'indice de tolérance chez le maïs d'une façon significative à partir de faibles doses. Concernant le Fe, nous n'avons observé une diminution significative qu'à partir de la concentration la plus élevée (1000 mg/kg). Cependant, l'indice de tolérance semble être peu affecté en présence du Zn.

✓ *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec)

Les résultats obtenus ont montré que le Cd a diminué significativement l'indice de tolérance du fenugrec. Concernant le Zn, on note une diminution de cet indice en présence de fortes doses. Cependant, le fer n'a pas d'effet significatif sur ce paramètre même lorsque les concentrations sont très élevées.

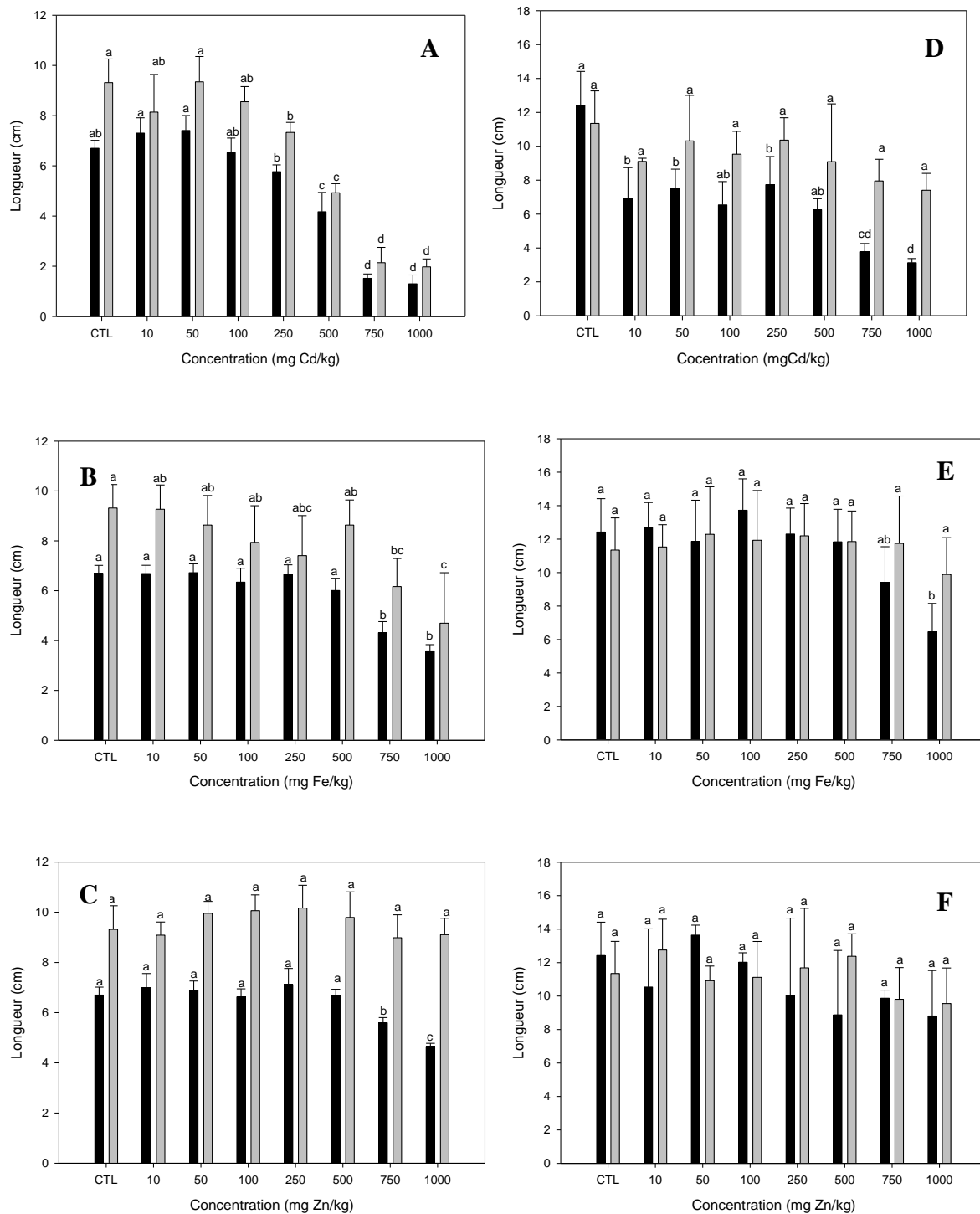


Figure 16: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) de l'orge (A, B et C) et du maïs (D, E et F) en présence du Cd, du Fe et du Zn. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives des concentrations appliquées sur la longueur des racines et des tiges ( $p < 0,05$ ).

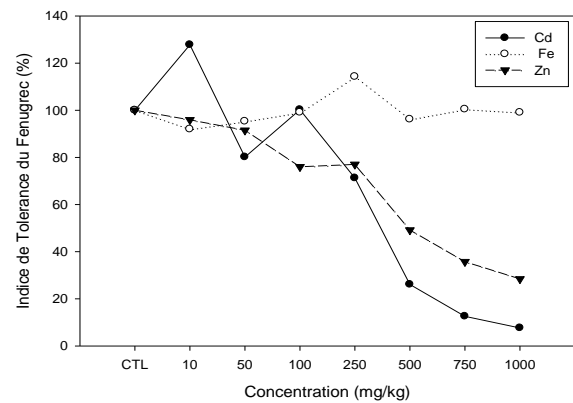
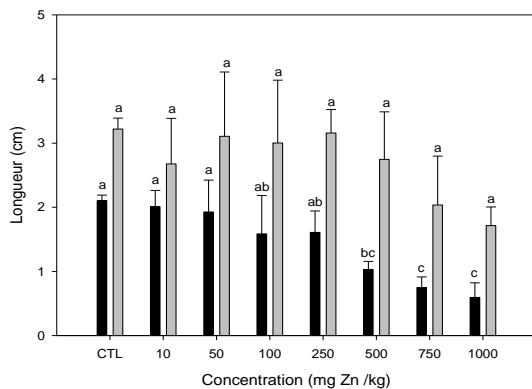
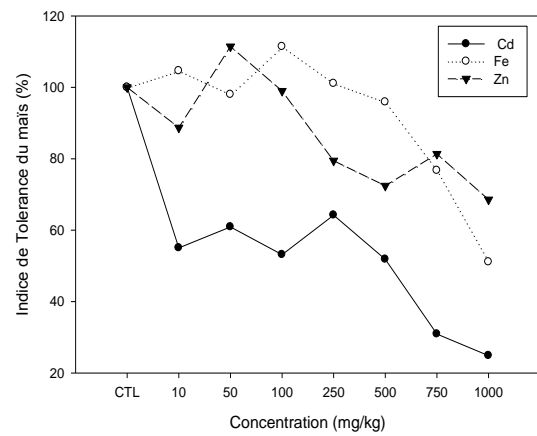
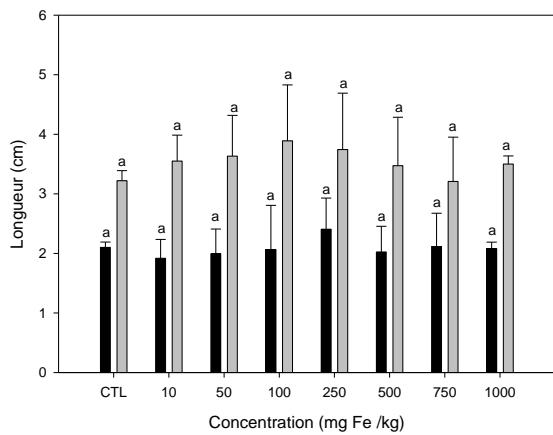
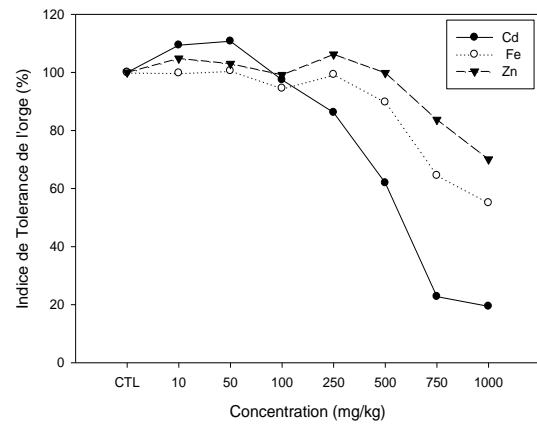
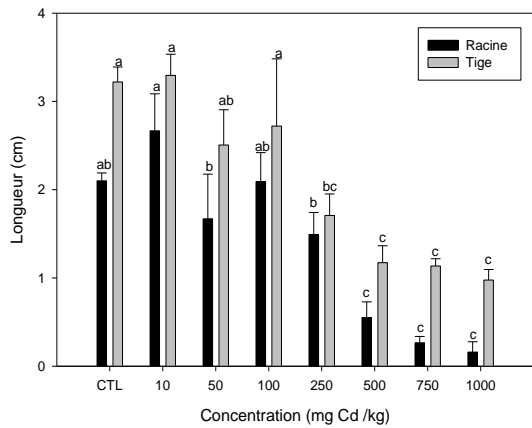


Figure 17: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) du fenugrec en présence des trois métaux (Cd, Fe et Zn). Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives des concentrations appliquées sur la longueur des racines et des tiges ( $p \leq 0,05$ ).

Figure 18: Indice de tolérance de l'orge, du maïs et du fenugrec en présence des trois métaux (Cd, Fe et Zn).

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart type (moyenne  $\pm$  Écart type).

### III. Effet des ETM sur les plantes cultivées sur le sol d'Ait Ammar.

En ce qui concerne cette partie de travail, nous avons étudié la germination et les premiers stades de développement des trois espèces végétales (l'orge, le maïs et le fenugrec) sur le sol du point le plus contaminé du site de la mine de fer d'Ait Ammar.

#### III.1. La germination des graines

Le pourcentage de germination des trois espèces germées sur le sol contaminé en comparaison avec les deux autres sols est présenté dans le tableau 9. Ces espèces ont montré une importante capacité de germination sur le sol contaminé comme pour les deux autres sols (> 83,3%).

Tableau 9: : le pourcentage de germination des graines testées dans le Sol de la mine de fer d'Ait Ammar.

Les résultats sont exprimés en moyenne de quatre répétitions  $\pm$  l'écart type. Différentes lettres minuscules montrent des différences significatives des concentrations appliquées sur le pourcentage de germination ( $p \leq 0,05$ ). REF : Sol de référence du site contaminé, CS sol contaminé.

| Traitement | Orge            | Maïs            | Fenugrec         |
|------------|-----------------|-----------------|------------------|
|            | Germination (%) | Germination (%) | Germination (%)  |
| Témoin     | 100 $\pm$ 0,0a  | 100 $\pm$ 0,0a  | 93,3 $\pm$ 11,5a |
| REF        | 100 $\pm$ 0,0a  | 100 $\pm$ 0,0a  | 96,7 $\pm$ 9,5a  |
| CS         | 100 $\pm$ 0,0a  | 96,7 $\pm$ 5,7a | 83,3 $\pm$ 20,8a |

#### III.2. Longueur des racines et des tiges

La figure 19 présente les résultats de la longueur des racines et des tiges des trois espèces étudiées sur les trois types du sol. Ces résultats montrent qu'il n'y a pas de différences significatives entre les paramètres étudiés pour les trois types de sols. Pour le maïs on constate presque les mêmes valeurs aussi bien pour la longueur des racines que pour les tiges sont retrouvées pour les trois types de sols. Nos résultats montrent aussi qu'une faible diminution de la longueur des racines du fenugrec a été observée dans le cas des plantes cultivées sur le sol contaminé.

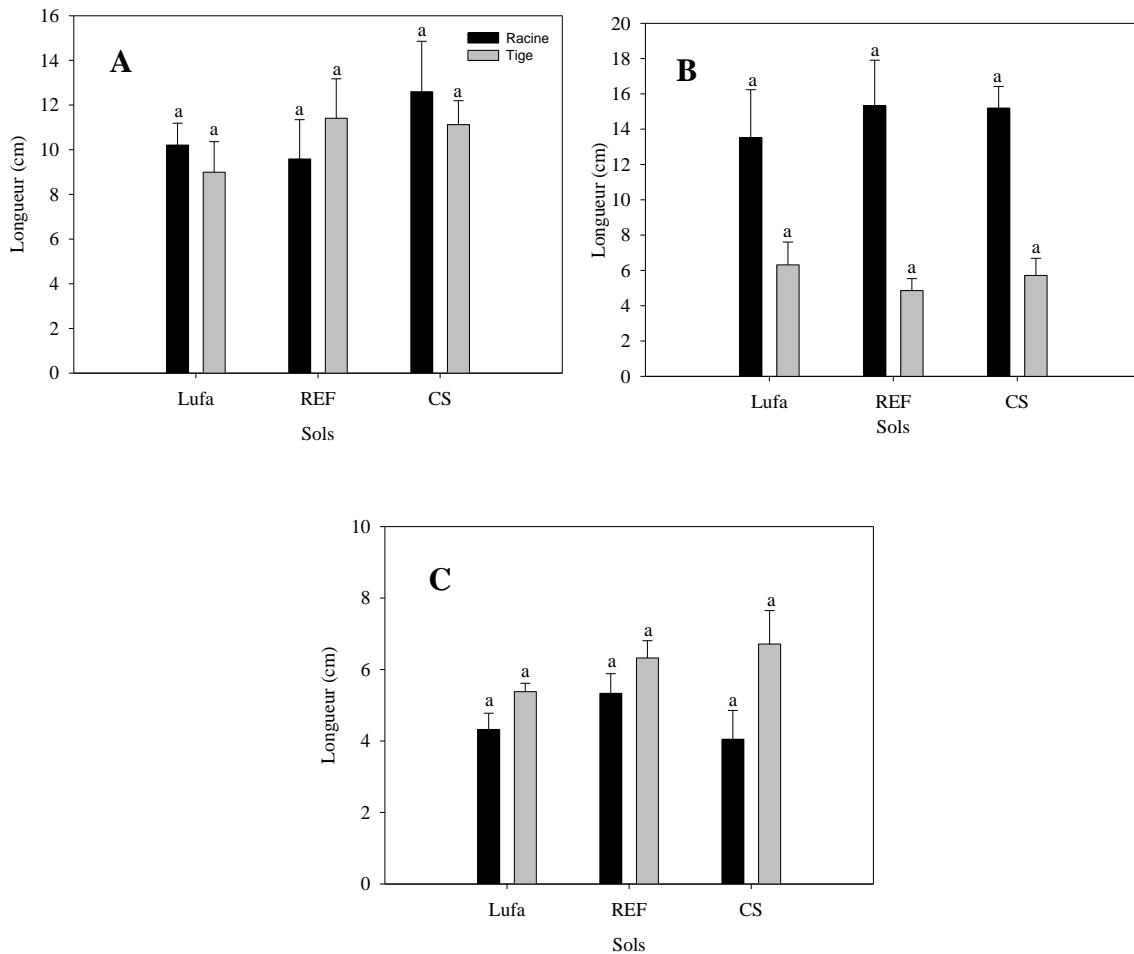


Figure 19: Longueur des racines (barre noire) et des tiges (barre grise) de l'orge (A), du maïs (B) et du fenugrec (C) cultivées sur le Sol de la mine de fer d'Ait Ammar. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives des concentrations appliquées sur la longueur des racines et des tiges ( $p \leq 0,05$ ). REF : Sol de référence du site contaminé, CS : sol contaminé.

### III.3. Indice de tolérance

La figure 20 montre les indices de tolérance des racines des plantes cultivées sur les trois types de sol. On remarque que les valeurs de ce paramètre varient en fonction des espèces végétales et le type de sol utilisé. Il apparaît que l'orge est l'espèce qui tolère le plus les ETM, puisque l'indice de tolérance augmente dans le cas du sol contaminé. Par contre, l'indice de tolérance du fenugrec a diminué dans le cas du sol contaminé.



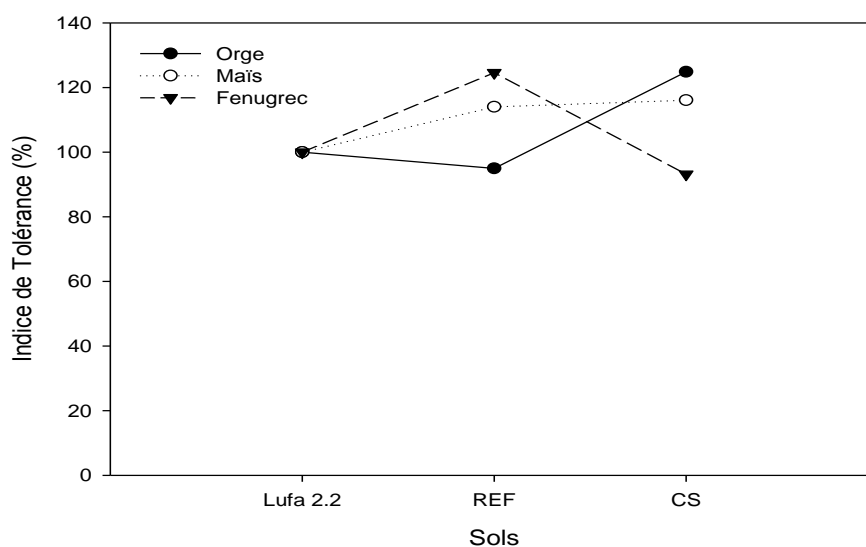


Figure 20: Indice de tolérance de l'orge, du maïs et du fenugrec cultivées dans le Sol de la mine de fer d'Ait Ammar.

REF : Sol de référence du site contaminé, CS : sol contaminé.

#### IV. Discussion

Les résultats obtenus montrent clairement que l'effet des éléments traces métalliques (ETM) sur la germination de graines varie en fonction du métal, des espèces végétales et du substrat utilisé. On constate que les paramètres mesurés sont plus affectés par le Cd que par le Fe et le Zn. Plusieurs travaux de recherche ont montré l'effet toxique du Cd sur la germination des graines de plusieurs espèces végétales (Guo et al., 2007; Cao et al., 2008; Kranner and Colville, 2011). Cette toxicité peut être expliquée par l'effet de cet élément sur la diminution de l'absorption et du transport de l'eau au cours de la germination (Bewley and Black, 1982 ; Becerril et al., 1989). Si le cadmium est connu par sa toxicité à faible dose, le fer et le Zinc sont essentiels pour la croissance des plantes à de faibles concentrations et ils ne sont toxiques qu'à des doses plus élevées (Wintz et al. 2002).

Le zinc est un élément important entrant dans la structure de diverses enzymes utilisées pour des fonctions régulatrices et structurelles (Broadley et al. 2007). D'autre part, le processus de respiration et la production d'énergie (photosynthèse) nécessitent la présence du fer (Connolly and Guerinet 2002; Kim and Guerinet 2007), mais son absorption est très contrôlée par les plantes (Kim and Guerinet 2007) car il est très toxique lorsqu'il est accumulé à des niveaux élevés (Connolly and Guerinet 2002; Morrissey and Guerinet 2009).

Le cadmium a inhibé clairement les racines et les tiges de différentes espèces testées par rapport au contrôle. L'inhibition observée de ces deux variables commence à apparaître à partir 50mg Cd/L et les racines semblent plus affectées que les tiges. Plusieurs études ont montré que les ETM provoquent une production élevée des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) (Gratão et al. 2005a) qui sont responsables de l'altération des fonctions physiologiques de la plante (Azooz et al. 2012). L'effet du Cd sur les plantes est décrit chez plusieurs espèces végétales (*Zea mays*, *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare*, *Sorghum sp.*, *Phaseolus vulgaris*, *Prunus dulcis*, *Ambrosia artemisiifolia*,) par plusieurs auteurs (Drażkiewicz and Baszyński, 2005; Elloumi et al., 2007; Guo et al., 2007; González et al., 2012; Hussain et al., 2012; Soudek et al., 2014 ; Bae et al., 2016; El Rasafi et al., 2016). Fernandes and Henriques, (1991) ont signalé que le Cd a induit une diminution de la croissance et du développement de la plante en induisant des dommages oxydatifs.

Des recherches antérieures ont montré que la germination des graines est l'étape la plus affectée par la présence de métaux (Moosavi et al. 2012; Rizwan et al. 2016b). Lorsque les graines sont exposées aux ETM, il y a un retard de la croissance embryonnaire (Talebi et al. 2014) suite à une perturbation du processus métabolique (Emamverdian et al. 2015) et une réduction de la division cellulaire (Subhashini and Swamy 2013). Le test de germination est utilisé comme un bon indicateur du stress des métaux (Munzuroglu and Geckil, 2002 ; Elleuch et al., 2013) à cause de la sensibilité des graines à la pollution par les ETM et aux changements des conditions environnementales (Solanki and Dhankhar, 2011 ; Chaâbene et al., 2015;). La racine est la première partie de la plante qui entre en contact avec la contamination dans le sol et par suite elle est plus sensible à la toxicité que les tiges (Araujo and Monteiro 2005; Yang et al. 2010; Yusuf et al. 2011). Généralement, la germination des graines et la prolongation des racines sont des tests rapides et largement utilisés pour évaluer l'effet de la toxicité (Lin and Xing 2007; Talebi et al. 2014). Le Cd est facilement absorbé par les plantes et transporté vers les tiges (Yourtchi and Bayat 2013) ce qui peut influencer la croissance de la partie aérienne et le développement des racines (Ahmad et al. 2012; Guilherme et al. 2015). Cet effet sur la partie aérienne est clair dans notre étude surtout pour le blé, le maïs et le fenugrec où les deux dernières concentrations (750 et 1000mg Cd/L) ont conduit à une réduction importante des tiges de ces plantes. Ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés par (Chaâbene et al. 2015) qui ont montré que les plantes du fenugrec exposées à une concentration de 0.5 mM de Cd présentent des racines courtes.

D'autre part, la comparaison de la germination des graines des cinq espèces végétales étudiées en présence des ETM, révèle des différences entre les espèces étudiées vis-à-vis de la tolérance aux métaux. Ce sont les deux espèces : l'orge et le haricot qui présentent le niveau de tolérance le plus élevé par rapport aux autres espèces. Ceci peut être expliqué par la présence du tégument chez ces deux espèces. Kranner and Colville (2011) ont rapporté que le tégument des graines constitue une importante barrière de défense contre le stress abiotique y compris les ETM. Dans le cas du Cd l'élément le plus toxique, on note une réduction de la longueur des tiges chez l'orge et le haricot en comparaison avec le témoin. Cette inhibition reste faible par rapport à celle observée pour les autres espèces (Orge – CTL: 8,1 cm, 1000mgCd/L: 2,1cm ; Haricot - CTL: 4,5 cm, 1000 mg Cd/L: 1,5cm).

Concernant le Fe, l'application des concentrations supérieures ou égales à 500 mg/L a induit une diminution importante des racines et des tiges de l'orge, du blé et du fenugrec. La concentration maximale 1000 mg Fe/L a affecté totalement la longueur des racines et des tiges du blé (1,07 cm et 1,64 cm respectivement) et du fenugrec (0,76 cm et 0,63 cm respectivement). Alors que, les racines et les tiges du haricot semblent ne pas être influencées par l'augmentation des concentrations du Fe. Des résultats similaires ont été obtenus par ce métal chez *Pisum sativum* (Nenova 2006) et *Oryza sativa* (Mehraban et al. 2008). Nagajyoti et al. (2010) ont signalé que la toxicité du Fe pouvait être liée à une absorption élevée de  $Fe^{2+}$  par les racines et à son transport vers les tiges. Ces ions peuvent endommager les membranes, l'ADN et les protéines en raison de la production des radicaux libres (Arora et al. 2002; De Dorlodot et al. 2005). D'autre part, Sinha et al., (1997) ont signalé que la toxicité du Fe s'accompagnait d'une augmentation du stress oxydatif chez plusieurs plantes.

Les résultats obtenus pour le cas du Zn sont presque similaires à ceux trouvés en présence de Fe. La seule différence observée c'est que le Zn n'a pas inhibé totalement ni les racines ni les tiges des plantes testées. L'augmentation de la concentration du Zn a diminué clairement ces deux paramètres chez l'orge, le blé et le fenugrec. L'effet du Zn sur la croissance du blé et le fenugrec a été obtenu surtout avec les fortes concentrations. Pour le maïs, on note une résistance importante vis-à-vis au Zn. D'autre part, les résultats obtenus ont montré qu'en général, les racines des espèces étudiées sont plus affectées par l'augmentation des doses de Zn que les tiges. Cette constatation est en accord avec le résultat obtenu par Lingua et al., (2008). Ils ont constaté que les racines sont inhibées à 70%, et les tiges à 50% en présence de Zn.

Concernant l'indice de tolérance, un des paramètres les plus utilisés pour évaluer la tolérance des espèces végétales aux métaux, on constate que l'augmentation de la concentration des éléments testés provoque une diminution des valeurs observées pour la plupart des espèces étudiées. Le cadmium est l'élément qui a un effet plus prononcé sur cet indice, suivis par le fer et enfin le Zinc.

Ces résultats encourageants, nous ont permis de suivre notre étude de l'effet des ETM sur la germination et la croissance de trois espèces végétales sur le sol.

Les résultats obtenus pour l'orge montrent que dans le cas du sol Lufa 2.2, l'augmentation de la concentration des trois métaux ne provoque pas d'effet sur le pourcentage de germination qui reste supérieur à 85%. Pour les deux autres espèces le maïs et le fenugrec, nous avons observé que seul le Cd qui inhibe la germination des graines. Donc l'inhibition de la germination est liée à l'élément métallique utilisé et l'espèce végétale. La présence ou l'absence du tégument chez graines peut aussi inhiber l'effet toxique des ETM et empêcher leurs passage à l'intérieur des cellules (Seregin and Kozhevnikova 2005). De même, on note que c'est le Cd qui affecte la croissance des racines des trois espèces testées. Pour le fer, il induit une diminution importante de la croissance des racines surtout du maïs et de l'orge. De même pour le Zn qui a affecté significativement les racines du fenugrec et de l'orge. Les racines sont la partie sensible de la plante et qui est en contact direct avec toute sorte de contamination. De ce fait, elles sont plus faciles à être affectées par le Fe (Hatamzadeh et al. 2012) et le Zn (Choi et al. 1996; Ebbs and Kochian 1997; Fontes and Cox 1998).

D'autre part, on note également que le Cd réduit l'indice de tolérance des trois espèces étudiées même à des concentrations très faibles. Cependant, les deux autres éléments (Fe et Zn), ils ne provoquent une diminution de ce paramètre que dans le cas des concentrations les plus élevées.

Pour les résultats obtenus pour la germination de graines sur le sol du site minier, on note des résultats plus ou moins proches de ceux obtenus pour le sol standard luffa 2.2. Le pourcentage de germination des trois espèces étudiées n'est pas affecté par la présence des ETM dans ce sol. D'autre part, la longueur des racines et tiges sont inférieures à celles obtenues pour le cas du sol de référence. De nombreux auteurs ont rapporté que les conditions du sol jouent un rôle majeur dans le comportement des éléments métalliques. Le pH, la matière organique, le potentiel redox et la texture du sol sont les principaux facteurs qui contrôlent la disponibilité des ETM (Antoniadis and Alloway, 2002; Reichman, 2002; Kabata-Pendias, 2004; Violante et al., 2010; González et al., 2011). La matière organique applique un important contrôle sur la biodisponibilité des ETM aux plantes.

## V. Conclusion

Les résultats de cette étude indiquent que les trois métaux Cd, Fe et Zn ont eu des effets différents sur la germination des graines et la longueur des racines et des tiges. Le cadmium est le métal le plus toxique par rapport aux deux autres métaux : le fer et le zinc (Cd > Fe > Zn).

De même, cette toxicité est liée aux au substrat où les graines ont germé. Les résultats obtenus au cours de cette étude indiquent que les espèces testées sont capables de germer et de développer des racines et des tiges en présence de faible concentration des métaux. Cependant, cette tolérance aux ETM est réduite lorsque les niveaux de métaux sont trop élevés. D'autre part, on constate que les deux espèces : l'orge et le maïs ont montré une capacité importante de se développer dans le sol contaminé.

D'autre part, les résultats obtenus ont montré également que les valeurs obtenues pour les paramètres étudiés varient en fonction du substrat utilisé. En général, les graines germées sur le papier filtre sont plus sensibles aux ETM que celles cultivées sur le sol.

*Chapitre 3 : Étude des caractéristiques  
d'accumulation et de tolérance d'Eucalyptus globulus  
aux éléments traces métalliques.*

## I. Les traits morphologiques

### I.1. La longueur des plantes

Les longueurs des tiges des plantes d'*E. globulus* cultivées sur les trois sols (substrat artificiel (témoin), sol de référence du site et sol contaminé) sont présentées dans la figure 21. Ces résultats obtenus montrent une augmentation de la longueur des tiges d'*E. globulus* au cours du temps pour les 3 traitements. Les analyses de variance ont révélé un effet hautement significatif des deux facteurs : temps et sol et leur interaction (temps :  $F = 316,033$ ,  $p < 0,000$ , sol:  $F = 9,122$ ,  $p < 0,001$ , interaction:  $F = 12,623$ ,  $p < 0,000$ ) (tableau 10). Selon la figure 1, nous constatons que la longueur de la partie aérienne des plantes cultivées dans le sol de référence est supérieure à celle des plantes cultivées dans le sol contaminé et le sol contrôle. La longueur des tiges dans ces deux derniers sols était presque similaire pendant les temps T0, T15 et T30, mais à partir de T45, on note une légère augmentation de la longueur des tiges des plantules cultivées sur le sol contrôle.

### I.2. La surface foliaire

A partir de la figure 22, on observe que la surface foliaire moyenne des plantes au jour T15 est presque similaire pour les trois traitements. Cependant, à partir de T45, on note qu'il y a une diminution de la surface foliaire des plantes cultivées dans le sol contaminé. Cette diminution devient importante au temps T75 en comparaison avec le contrôle.

## II. Les traits physiologiques

### II.1. La teneur relative en eau des feuilles (RWC)

L'analyse de variance de la teneur relative en eau a révélé qu'il n'y a pas de différences significatives entre les trois sols. Selon la figures 23, nous constatons que les valeurs de la teneur relative en eau des feuilles sont presque les mêmes dans le cas du sol contaminé que dans les deux autres sols. Ceci montre bien que les métaux présents dans le sol contaminé d'Ait Ammar n'avaient aucun effet sur la RWC (%) des feuilles de cette espèce.

### II.2. La teneur des pigments

Les résultats obtenus des teneurs en pigments (chlorophylle a, chlorophylle b, chlorophylle a/b ratio et caroténoïdes) après trois mois de croissance dans le sol d'Ait Ammar sont présentés dans la figure 24.

### *II.2.1. Teneur en chlorophylle a*

L'analyse de variance montre des différences significatives pour les deux facteurs : sol et temps. Les résultats soulignés dans la figure 26 ont révélé une régression de la teneur en chlorophylle a au jour 45 (T45) puis une légère augmentation au jour 75 (T75). La comparaison des trois sols montre que cette teneur varie de la même manière au niveau des trois temps : T15, T45 et T75, avec une diminution chez les plantes cultivées sur le sol contaminé, représenté par les valeurs de 0,7003 ; 0,4107 et 0,4224  $\mu\text{mol g}^{-1}$  FW pour les temps T15, T45 et T75, respectivement.

### *II.2.2. Teneur en chlorophylle b*

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en chlorophylle b diminuent pour les trois sols utilisés au jour 45 (T45) et continue à diminuer pour le jour 75 (T75) seulement pour le sol contaminé. Cependant, elles augmentent à nouveau pour le sol artificiel et le sol de référence au jour 75 (T75).

De plus, aucune différence significative n'a été enregistrée pour le rapport chlorophylle a/b pour les deux facteurs (sol et temps), ainsi que leur interaction.

### *II.2.3. Teneur en caroténoïdes*

L'analyse de variance a montré que les teneurs des caroténoïdes sont significativement différentes au cours du temps, alors qu'il n'y a pas de différence significative entre les sols. En comparaison avec le contrôle, la quantité des caroténoïdes a diminué au jour 45 (T45), suivie d'une légère augmentation au jour 75 (Figure 24). Pour le cas du sol contaminé, on constate que les teneurs de ces pigments diminuent avaient progressivement au fil du temps.



Tableau 10: Résultats de l'analyse de variance sur les paramètres mesurés.

|                      | Source de variation | df | F       | P     | signification |
|----------------------|---------------------|----|---------|-------|---------------|
| Longueur des plantes | Sol                 | 2  | 9,122   | 0,001 | ***           |
|                      | Temps               | 5  | 316,033 | 0,000 | ***           |
|                      | Sol * Temps         | 10 | 12,623  | 0,000 | ***           |
| Surface foliaire     | Sol                 | 2  | 41,684  | 0,000 | ***           |
|                      | Temps               | 2  | 107,791 | 0,000 | ***           |
|                      | Sol * Temps         | 4  | 11,904  | 0,000 | ***           |
| Fv/Fm                | Sol                 | 2  | 0,114   | 0,892 | n.s.          |
|                      | Temps               | 4  | 21,190  | 0,000 | ***           |
|                      | Sol * Temps         | 8  | 4,384   | 0,000 | ***           |
| ΦPSII                | Sol                 | 2  | 1,190   | 0,308 | n.s.          |
|                      | Temps               | 4  | 48,192  | 0,000 | ***           |
|                      | Sol * Temps         | 8  | 1,770   | 0,090 | n.s.          |
| Chl a                | Sol                 | 2  | 4,071   | 0,021 | *             |
|                      | Temps               | 2  | 22,891  | 0,000 | ***           |
|                      | Sol * Temps         | 4  | 0,265   | 0,900 | n.s.          |
| Chl b                | Sol                 | 2  | 1,742   | 0,182 | n.s.          |
|                      | Temps               | 2  | 10,935  | 0,000 | ***           |
|                      | Sol * Temps         | 4  | 1,335   | 0,264 | n.s.          |
| Caroténoïdes         | Sol                 | 2  | 1,775   | 0,176 | n.s.          |
|                      | Temps               | 2  | 48,662  | 0,000 | ***           |
|                      | Sol * Temps         | 4  | 5,325   | 0,001 | ***           |
| RWC                  | Sol                 | 2  | 0,526   | 0,593 | n.s.          |
|                      | Temps               | 2  | 2,749   | 0,070 | n.s.          |
|                      | Sol * Temps         | 4  | 1,122   | 0,352 | n.s.          |
| MDA                  | Sol                 | 2  | 7,536   | 0,001 | ***           |
|                      | Temps               | 2  | 18,238  | 0,000 | ***           |
|                      | Sol * Temps         | 4  | 3,071   | 0,021 | *             |

\*, \*\*, \*\*\* représente les différences statistiques à  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  et  $p \leq 0,001$ , respectivement; n.s. = non significatif ( $p > 0,05$ ).

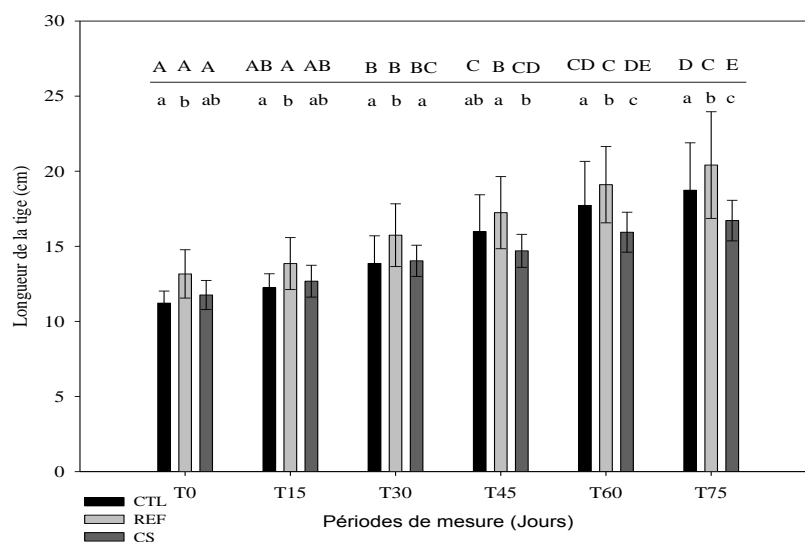


Figure 21: Valeurs moyennes des tiges (cm) d'*E. globulus* exposées aux sols témoins (CTL), de référence (REF) et contaminés (CS) après 0 (T0), 15 (T15), 30 (T30), 45 (T45), 60 (T60) et 75 (T75) jours d'essais.

Les barres d'erreur représentent l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives entre les sols au sein de chaque temps de mesure respectif ( $p \leq 0,05$ ). Différentes lettres majuscules représentent des différences significatives entre les temps de mesure, au sein de chaque type de sol.

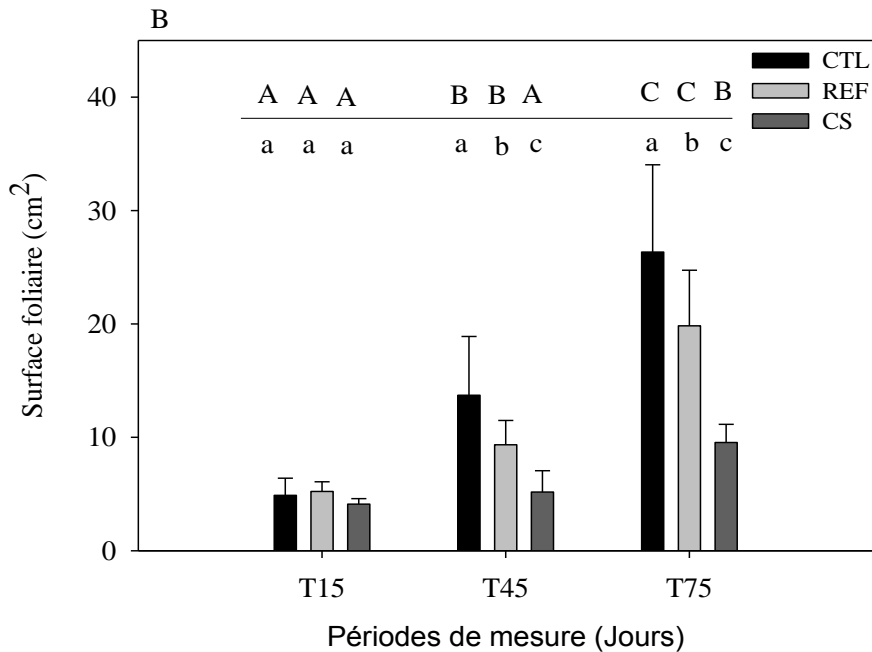


Figure 22: Valeurs moyennes de la surface foliaire (cm<sup>2</sup>) d'*E. globulus* exposées aux sols témoins (CTL), de référence (REF) et contaminés (CS) après 15 (T15), 45 (T45) et 75 (T75) jours d'essais. Les barres d'erreur représentent l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives entre les sols au sein de chaque temps de mesure respectif ( $p \leq 0,05$ ). Différentes lettres majuscules représentent des différences significatives entre les temps de mesure, au sein de chaque type de sol.

### II.3. La teneur en Malondialdéhyde MDA

L'analyse de variance a mis en évidence des différences significatives entre les sols ( $F = 7,536$  ;  $p = 0,001$ ), entre les temps d'exposition ( $F = 18,238$  ;  $p = 0,000$ ) et ainsi que leur interaction ( $F = 3,071$  ;  $p = 0,021$ ). La figure 25 montre que les plantes cultivées sur le sol contaminé, présentent une diminution de la teneur en MDA au temps T75.

### II.4. L'Efficacité du photosystème

L'analyse de variance du rapport  $F_v / F_m$  a révélé qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents sols ( $p = 0,892$ ). Cependant, on note une différence significative entre les temps de mesure ( $F = 21,190$  ;  $p = 0,000$ ) et leur interaction avec les sols. Le sol de référence est significativement différent des deux autres sols ( $p < 0,05$ ) pour T15 et T75. Généralement, les valeurs de  $F_v / F_m$  sont comprises entre 0,8053 et 0,8921 pour le contrôle, 0,7689 et 0,8959 pour le sol de référence et entre 0,8053 et 0,8894 pour le sol contaminé (Figure 25). Concernant l'efficacité du Photosystème II ( $\Phi_{PSII}$ ), l'analyse de variance a révélé également qu'il n'y a pas de différence significative entre les sols. Le comportement des plantes vis-à-vis de ce paramètre est similaire pour les trois sols à partir du T0 jusqu'au T60.

## II.5. Teneurs des ETM dans la plante.

Une mesure des éléments traces métalliques a été réalisée dans les parties aériennes et racinaires d'*Eucalyptus globulus* après trois mois de culture dans les trois types de sols (Tableau 10). Quel que soit l'organe à l'origine des ETM, on note qu'il n'y a pas de différence significative entre la majorité des éléments analysés obtenus pour les trois types de sols. De même, l'analyse comparative de distribution des ETM dans les parties d'*E. globulus*, montre une forte accumulation de ces éléments par les racines par rapport aux feuilles.

D'autre part, il semble que cette espèce concentre préférentiellement le Fe et le Zn aussi bien dans les racines (Fe : 15,98 - 213,99  $\mu\text{g g}^{-1}$  ; Zn (1,64 - 1,99  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) que dans les feuilles (Fe : 5,97 - 15,98  $\mu\text{g g}^{-1}$  ; Zn : 0,67 - 1,19  $\mu\text{g g}^{-1}$ ).

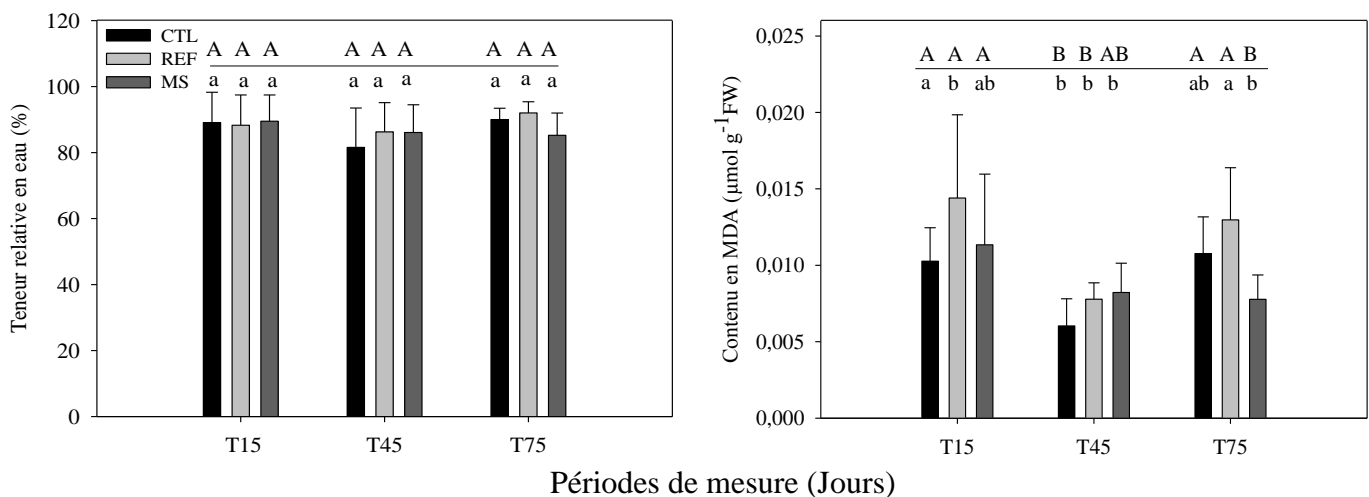


Figure 23: Teneur relative en eau et teneur en MDA des plantes d'*E. globulus* cultivées sur les trois sols (sol témoins (CTL), sol de référence (REF) et sol contaminés (CS)).

Les barres d'erreur représentent l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives entre les sols au sein de chaque temps de mesure respectif (T) ( $p \leq 0,05$ ). Différentes lettres majuscules représentent des différences significatives entre les temps de mesure, au sein de chaque type de sol.

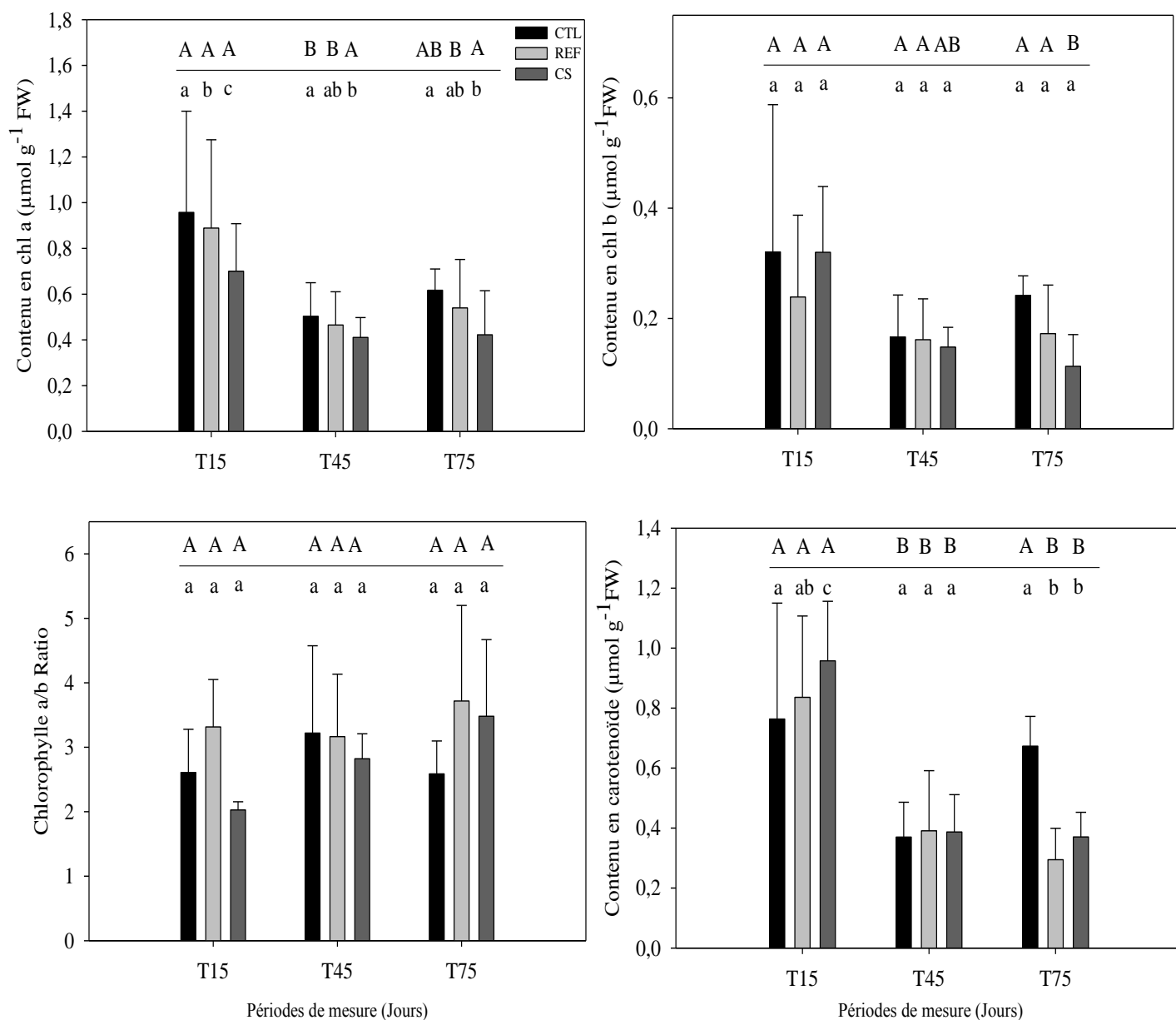


Figure 24: Teneur en Chl a, Chl b, Chl(a/b) et Caroténoïde des plantes d'*E. globulus* cultivées sur les trois sols (sol témoins (CTL), sol de référence (REF) et sol contaminés (CS)). Les barres d'erreur représentent l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives entre les sols au sein de chaque temps de mesure respectif (T) ( $p \leq 0,05$ ). Différentes lettres majuscules représentent des différences significatives entre les temps de mesure, au sein de chaque type de sol.

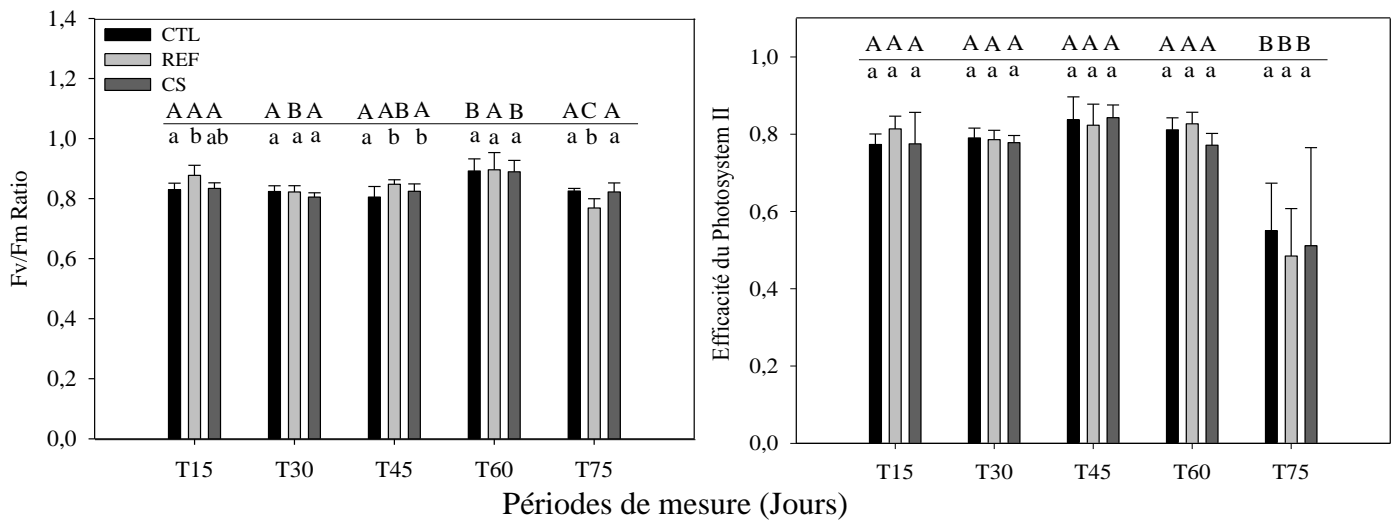


Figure 25: Valeurs moyennes de la Fv/Fm ratio et le rendement quantique ( $\Phi_{PSII}$ ) d'*E. globulus* cultivées sur les trois sols (sol témoins (CTL), sol de référence (REF) et sol contaminés (CS)). Les barres d'erreur représentent l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives entre les sols au sein de chaque temps de mesure respectif ( $p \leq 0,05$ ). Différentes lettres majuscules représentent des différences significatives entre les temps de mesure, au sein de chaque type de sol.

Tableau 11 : Teneur moyenne en métaux ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) dans les racines et les feuilles d'*Eucalyptus globulus* exposés aux sols témoins (CTL), de référence (REF) et contaminés (CS).

| Métal | Racines        |                |                  | Feuilles     |                |              |
|-------|----------------|----------------|------------------|--------------|----------------|--------------|
|       | CTL            | REF            | CS               | CTL          | REF            | CS           |
| Cd    | 0,03 ± 0,018   | 0,03 ± 0,034   | 0,02 ± 0,007     | n.d          | 0,12 ± 0,143   | n.d.         |
| Cr    | 0,24 ± 0,115   | 0,41 ± 0,435   | 0,32 ± 0,122     | 0,14         | 0,26 ± 0,188   | 0,08         |
| Cu    | 1,06 ± 0,218   | 0,32 ± 0,314   | 0,40 ± 0,098     | n.d.         | 0,26 ± 0,038   | 0,25         |
| Zn    | 1,99 ± 0,364   | 1,64 ± 1,621   | 1,79 ± 0,632     | 0,67 ± 0,140 | 1,19 ± 0,626   | 0,90 ± 0,344 |
| Pb    | 0,22 ± 0,122   | 0,15 ± 0,169   | 0,29 ± 0,074     | 0,02 ± 0,008 | 0,04 ± 0,018   | 0,02         |
| Fe    | 15,98 ± 74,865 | 56,08 ± 58,573 | 213,39 ± 100,951 | 5,97 ± 0,877 | 15,98 ± 18,739 | 7,30 ± 4,372 |

Les résultats sont exprimés en moyenne ± Standard déviation; n.d. - non-déecté.

## II.6. Facteur de translocation et bioaccumulation

La capacité de la plante de transférer les ETM des racines vers la partie aérienne a été évaluée par le facteur de translocation (Tableau 11). Ce tableau montre que les valeurs les plus élevées de ce paramètre sont observées pour le Cu, le Zn et le Cr (0,622 ; 0,506 et 0,250, respectivement).

D'autre part, on constate que les valeurs de BAF sont généralement faibles (Tableau 12). Les valeurs les plus élevées ont été obtenues pour le Pb (0,1706 ; 0,0062), suivi du Zn (0,0192 ; 0,0097) et du Cu (0,0183 ; 0,0057), montrant ainsi que ce sont les métaux les plus accumulés dans les racines et les feuilles de cette espèce.

*Tableau 12: Facteurs de bioaccumulation d'E. globulus pour les racines (BAF<sub>racines</sub>) et les feuilles (BAF<sub>feuilles</sub>) et facteur de translocation (TF), sous le sol contaminé (CS). Les concentrations de métaux dans le sol ([Métal<sub>CS</sub>]), les racines ([Métal<sub>racines</sub>]) et les feuilles ([Métal<sub>feuilles</sub>]) utilisées dans les calculs BAF et TF sont également représentées.*

| Metal | [Metal] <sub>CS</sub> | [Metal] <sub>racines</sub> | [Metal] <sub>feuilles</sub> | BAF <sub>racines</sub> | BAF <sub>feuilles</sub> | TF: ratio<br>feuille / racine |
|-------|-----------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------------|
|       | µg g <sup>-1</sup>    |                            |                             |                        |                         |                               |
| Cd    | 20,4                  | 0,019                      | <dl                         | 0,0006                 | n.d.                    | n.d.                          |
| Cr    | 167,95                | 0,325                      | 0,081                       | 0,0019                 | 0,0005                  | 0,250                         |
| Cu    | 21,93                 | 0,401                      | 0,250                       | 0,0183                 | 0,0057                  | 0,622                         |
| Zn    | 92,99                 | 1,787                      | 0,904                       | 0,0192                 | 0,0097                  | 0,506                         |
| Pb    | 1,700                 | 0,290                      | 0,021                       | 0,1706                 | 0,0062                  | 0,072                         |
| Fe    | 59780                 | 213,392                    | 7,304                       | 0,0036                 | 0,0001                  | 0,034                         |

dl - limite de détection ; n.d. - non déterminé.

## III. Discussion

Les résultats obtenus pour la croissance des plantes d'*E. globulus* sur les trois types de sol, montrent que les paramètres mesurés (la longueur des plantes et la surface foliaire) sont plus affectés chez les plantes cultivées sur les sols contaminés. En effet, on constate que les feuilles des plantes cultivées sur le sol contaminé sont plus petites et les branches sont moins robustes. En plus, les feuilles âgées présentent des symptômes de développement anormaux, tels que les taches chlorotiques et la nécrose. Ces effets, pourrait être dû à la présence des métaux (Bojarczuk, 2004; Bissonnette et al., 2010; Maisto et al., 2013). Des recherches antérieures ont montré que la présence des ETM dans le sol peut entraîner des maladies des feuilles de plantes. Arriagada et al. (2010) ont rapporté que les plantes d'*E. globulus* cultivées sur des sols contaminés par le Cd et le Zn ont présenté des dommages importants au niveau de la croissance des plantes et la production de biomasse avec la présence des chloroses au

niveau des feuilles. Les mêmes résultats ont été observés chez *E. camaldulensis* cultivées en présence de Cd et Cr (Shah et al. 2011). Les dommages observés pourraient être dus à la réduction de la taille des cellules et de l'espace intercellulaire (Barceló et al. 1988; Rucińska-Sobkowiak 2016) ou à l'inhibition de l'élongation cellulaire en présence des teneurs élevées en métaux dans les sols (Maisto et al., 2013). D'autre part, le pH acide et la faible teneur en matière organique du sol contaminé peut affecter le développement de cette espèce puisqu'ils favorisent la solubilisation des métaux en les rendant plus biodisponibles (Marques et al. 2014). En effet, les métaux dans les sols sont facilement absorbés par les plantes (Pajević et al. 2016), ce qui peut provoquer plusieurs changements physiologiques et biochimiques (Shah et al. 2011). La deuxième partie a été consacrée à l'étude des paramètres physiologiques tel que le rapport Fv/Fm considéré comme un paramètre rapide et non destructif pour surveiller le stress photosynthétique chez les plantes (Baker 2008; Li et al. 2010; Murchie and Lawson 2013). L'analyse statistique des résultats du Fv / Fm et  $\Phi$ PSII montre que le comportement des plantes est similaire pour les trois sols. En plus que l'effet des métaux, ces dommages observés chez ces plantes peuvent être également dus à d'autres stress que les métaux, comme un manque de nutriments ou une intensité lumineuse non optimale (Adelusi and Aileme 2006). Les valeurs du Fv / Fm est principalement supérieures à 0,8. Selon Björkman and Demmig, (1987), lorsque le rapport Fv / Fm est au tour de 0,80 les feuilles ne sont pas stressées et ces valeurs sont inférieures à 0,8, il y a une indication de stress environnemental (Krause and Weis 1991; Ögren and Evans 1992). À la lumière des résultats obtenus au cours de cette partie, on peut dire que l'efficacité photosynthétique d'*E. globulus* n'est pas fortement altérée par le sol de la mine.

Concernant l'analyse des pigments, les résultats obtenus montrent des différences significatives de la teneur en Chlorophylle a entre les trois types de sol. Cependant, on note qu'il n'y a pas de différence significative de la teneur en Chlorophylle b et des caroténoïdes. D'une façon générale, on note une diminution de la teneur des trois pigments au fil du temps. Plusieurs études ont montré l'influence néfaste des métaux sur les pigments comme les chlorophylles et les caroténoïdes, renforçant leur potentiel de détection des impacts des conditions stressantes (Habiba et al. 2014; Adrees et al. 2015). Hussain et al., (2012) et Doganlar et al., (2012) ont rapporté une réduction de la teneur totale en chlorophylles et en caroténoïdes en présence de fortes concentrations de métaux (Cu, Pb, Zn, Cd et Fe) dans le sol des zones urbaines et industrielles. Doganlar et al., (2012) ont signalé une relation négative entre la concentration de Fe et la teneur en chlorophylle chez *E. camaldulensis*. Les

effets observés peuvent être dus à la dégradation des chlorophylles associée au blocage du transport d'électrons photosynthétiques induits par les métaux (Pätsikkä et al. 2002), à la photoinhibition chez les feuilles matures (Vinit-dunand et al. 2002) ou à la dégradation des chloroplastes dus au stress oxydatif (Sandalio et al. 2001).

Les résultats obtenus pour la RWC foliaire sont presque similaires entre le sol contaminé et les deux autres sols tout au long de la période d'exposition. Les valeurs obtenues pour les trois types de sol sont supérieures à 80%. Selon Roger, (2003), les valeurs de RWC comprises entre 90 et 100 % correspondent au fonctionnement normal des pores stomatiques des feuilles, tandis que 80 à 90% peuvent être le signe de certaines altérations du métabolisme des plantes associées à la photosynthèse et à la respiration.

Concernant la teneur en MDA, les résultats obtenus ont montré que ce paramètre est affecté par le type de sol. Au début de notre expérience de T15 à T45, on constate qu'il y a une réduction de la teneur de ce paramètre. Cependant à T75, la peroxydation lipidique a de nouveau augmenté dans les deux sols : contrôle et sol de référence et reste réduite pour le sol contaminé. De ce fait, il semble que *E. globulus* a pu s'adapter au contrainte initiale causée par les conditions expérimentales et / ou les propriétés du sol contaminé. Une telle adaptation au sol de la mine riche en ETM montre bien l'efficacité de cette espèce en phytoremediation. Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux de recherches sur cette espèce qui ont rapporté une réduction de la peroxydation lipidique sous le stress métallique ; mais après une période d'adaptation, les plantes peuvent surmonter le stress oxydatif et réduire les niveaux de MDA (Patra and Panda, 1998; Prasad et al., 1999; Dhir et al., 2004; Giroto et al., 2013; De Alcântara et al., 2015).

Après 30 jours de culture sur le sol contaminé de la mine de fer d'Ait Ammar, les résultats obtenus relatifs à l'accumulation des ETM par l'*E. globulus* montrent que le Fe est accumulé à des teneurs relativement élevées dans les plantes exposées au sol de référence et au sol contaminé. Ce métal est essentiel dans le métabolisme des plantes. Cependant, sous des concentrations sur-optimales, il peut induire des effets négatifs sur l'efficacité photosynthétique des plantes et les réponses au stress oxydatif (Sharma et al., 2004). D'autre part, on note que les racines ont accumulé des valeurs élevées d'ETM (spécialement le Fe et le Zn) que les feuilles. *Eucalyptus spp.* est connu par sa capacité de vivre dans des sols contaminé par différents types de métaux (Cr, Pb, Cd, Cu, As, Zn ) et de les accumuler dans



les racines (Cipriani et al., 2012; Meeinkurt et al., 2012; Fine et al., 2013; Mughini et al., 2013; Luo et al., 2015; Nirola et al., 2016).

Pour analyser le potentiel d'accumulation, nous avons entamé par la suite une analyse de facteurs de bioaccumulation (BAF). Les valeurs de ces paramètres sont généralement faibles sauf pour le Pb, Zn et Cu qui montrent des valeurs relativement élevées ce qui montre que ce sont les métaux les plus accumulés dans les racines et les feuilles d'*E. globulus*. Ces valeurs sont similaires à celles obtenues par Meeinkurt et al., (2012) pour *Eucalyptus sp.* (BAF au niveau des racines 0 et 0,19 pour Pb). De même, Nirola et al. (2016) ont obtenus des valeurs similaires en ce qui concerne le Cu (BAF = 2,17), Pb (BAF = 1,30) et Zn (BAF = 1,89) dans les feuilles de *E. camaldulensis* qui proviennent d'une mine de Cu. Sharma et al. (2004) ont montré que les concentrations élevées de Fe avaient un effet antagoniste sur l'accumulation de Cd, dans la mesure où elle supprimait l'absorption et la translocation du Cd dans la plante. Cela pourrait expliquer les valeurs faibles de BAF déterminées pour le Cd dans notre étude. Nirola et al. (2016) ont conclu que cette espèce est un phyoextracteur potentiel de ces métaux, une fois que les valeurs de  $BAF_{\text{feuilles}}$  sont supérieures à 1. Mok et al. (2013) ont soutenu la même conclusion pour *E. cladocalyx* et *E. polybractea*, puisqu'ils ont obtenu des valeurs de bioconcentration ( $BCF_{\text{feuilles}}$  et  $BCF_{\text{tiges}}$ ) obtenus notamment pour Cd (0,32-0,94 et 0,29-0,9), Cr (0-0,1 et 0-0,14), Cu (0,02- 0,39 et 0,03-0,81) et Zn (0,37-6,14 et 0,5-7,61).

D'autres auteurs suggèrent de manière cohérente l'utilisation d'*Eucalyptus spp.* comme phytoremédiatrices seulement pour la stabilisation / l'immobilisation des métaux au niveau des racines (Cipriani et al., 2012, Fine et al., 2012, Meeinkurt et al., 2012), mais pas pour leur extraction. En effet, leur capacité à transférer des métaux capturés au niveau de la racine jusqu'aux parties aériennes de la plante est généralement très faible. Dans notre étude, les ratios feuille / racine les plus élevés ont été obtenus pour le Cu (0,622), le Zn (0,506) et le Cr (0,250), bien qu'ils soient tous  $<1$ . Cela signifie que les métaux analysés atteignent à peine les parties supérieures de la plante, renforçant ainsi le potentiel de phytostabilisation de cette espèce. En outre, le risque d'entrer dans la chaîne alimentaire (qui est déjà faible en raison de sa faible comestibilité) et de disséminer la contamination par dispersion aérienne ou dépôt de feuilles dans le sol est peu probable (Meeinkurt et al., 2012).

#### IV. Conclusion

Les résultats présentés dans cette expérience montrent que la longueur des tiges, la surface foliaire et la teneur en pigments ont été légèrement affectés dans le sol minier comparativement aux autres sols. Cependant, l'efficacité photosynthétique et la RWC n'ont pas été significativement réduits. En outre, *E. globulus* accumule certains métaux dans les racines, démontrant ainsi sa capacité à stabiliser les métaux, tout en sécurisant leur non-translocation aux parties aériennes, prévenant ainsi les risques de dissémination.

En conclusion, *E. globulus* présente certaines caractéristiques intéressantes à exploiter en vue de la phytoremédiation des métaux dans les sols miniers qui ont besoin de mesures de nettoyage ou d'atténuation.

*Chapitre 4 : Étude de l'effet des amendements organiques sur la croissance de l'orge et du maïs cultivés sur un sol contaminé par des ETM.*

Au cours de cette partie, nous avons étudié l'effet du sol contaminé de la mine de fer d'Ait Ammar sur la croissance de deux espèces végétales : l'orge et le maïs pendant 30 jours de culture en présence des différents types d'amendements organiques. Cette étude vise à évaluer et à tester le potentiel de quelques types d'amendements organiques : le biochar et le fumier d'animaux (humus naturel).

## I. Mesure du pH et de la conductivité électrique du sol

Le pH des sols en présence des amendements utilisés a augmenté dans les deux cultures de plantes par rapport à la valeur initiale du pH du sol contaminé (6,54) et par rapport à celle trouvée dans ce sol après la fin du test (7,35 dans l'orge et 7,46 dans le maïs) (Tableau 12). Pour la culture de l'orge, le pH est presque le même dans les différents amendements variant de 7,62 à 7,93, excepté dans le sol amendé de 5% de biochar où le pH est de 8,14. Pour la culture du maïs, le pH a augmenté dans les sols où les amendements organiques sont ajoutés d'une valeur comprise entre 0,53 et 0,93 unité de pH avec l'augmentation la plus élevée est observée en présence du biochar.

Après 30 jours de culture des deux espèces, la conductivité électrique diminue dans le sol contaminé (Orge :  $72,4 \mu\text{S cm}^{-1}$  ; Maïs :  $91,8 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) en comparaison avec celle trouvée dans ce sol avant le début du test ( $367 \mu\text{S cm}^{-1}$ ). Cependant, l'ajout des fumiers d'animaux dans le sol contaminé a augmenté la conductivité électrique de ce sol pour les deux cultures par rapport à la valeur trouvée avant le début du test avec des valeurs variant entre  $432,2 \mu\text{S cm}^{-1}$  et  $614,9 \mu\text{S cm}^{-1}$ . Par ailleurs, les valeurs de la conductivité électrique enregistrées dans le sol contaminé amendé avec 2,5 et 5% de biochar sont supérieures à celle du sol non amendé pour la culture de l'orge seulement. Ces valeurs ( $101,2 \mu\text{S cm}^{-1}$  et  $104,6 \mu\text{S cm}^{-1}$  pour 2,5 et 5%) restent inférieures à celle enregistrée dans le sol contaminé au départ du test ( $367 \mu\text{S cm}^{-1}$ ).

En général, les résultats obtenus montrent que la valeur la plus élevée du pH du sol contaminé non amendé est observée pour la culture du maïs et celle de la conductivité électrique est trouvée pour la culture de l'orge. Ces résultats montrent aussi que l'ajout des amendements organiques (le biochar) provoque une augmentation du pH du sol pour les deux cultures par rapport au fumier d'animaux. Alors que pour la conductivité électrique, c'est le fumier d'animaux qui a un effet positif pour les deux cultures.

## II. Effet des amendements organiques sur les paramètres de croissance.

### II.1. Longueur de la racine et de la tige

La figure 26 montre une vue générale des deux espèces végétales cultivées en présence des différents traitements utilisés.

#### ✓ Orge :

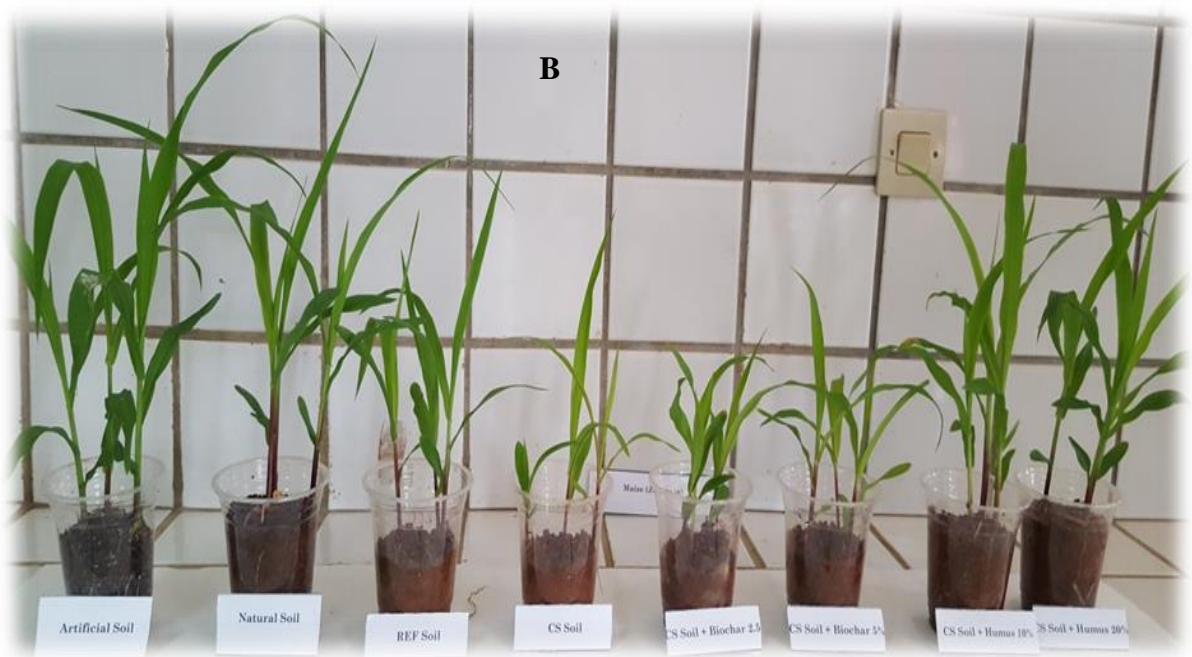
L'analyse de variance a révélé des différences significatives entre les différents traitements aussi bien pour les racines ( $F=5,328$  ;  $p=0,003$ ) que pour les tiges ( $F=4,992$  ;  $p=0,004$ ). Cependant, la longueur de tiges des plantes cultivées sur le sol contaminé est la même que pour les plantes cultivées sur le sol naturel et le traitement B<sub>5</sub> (figure 27A). D'autre part, on note que les valeurs de la longueur des racines des plantes cultivées sur le sol contaminé sont les mêmes que celles obtenues pour le sol de référence et les traitements de biochar. En effet, il n'y a pas de différence significative de la longueur totale des plantes en présence des différents traitements utilisés. Selon la figure 27B, nous constatons que la longueur des plantes cultivées sur le sol artificiel, le sol naturel et le traitement B<sub>5</sub> présente presque la même valeur (48,2 à 51,9 cm) qui est supérieure à celles trouvées pour le sol contaminé et les traitements de H<sub>10</sub>, H<sub>20</sub> et B<sub>2,5</sub> (39,8 à 41,9 cm).

#### ✓ Maïs :

L'analyse de variance montre des différences significatives entre les différents traitements pour la longueur des tiges ( $p=0,027$ ). Cependant, on note qu'il n'y a pas de différence significative pour la longueur des racines et la longueur totale des plantes. Généralement, les plantes du maïs ont développé des racines de même longueur pour les différents traitements et des longueurs de tiges faibles pour le sol contaminé et les traitements du biochar (B<sub>2,5</sub> et B<sub>5</sub>) (Figure 27D). Selon la figure 27E, on note que les plantes cultivées sur le sol contaminé, le sol de référence et le traitement B<sub>2,5</sub> ont presque la même longueur totale des plantes qui est inférieure à celle trouvée pour le sol artificiel, le sol naturel et les traitements B<sub>5</sub> et H<sub>10</sub>.

Tableau 13: L'effet des amendements organiques sur le pH et la conductivité électrique du sol.  
Les résultats sont exprimés en moyenne de trois répétitions avec l'écart type

|                              |      | Avant le Test |               |               | Après le Test  |             |               |               |                 |                 |                  |                |
|------------------------------|------|---------------|---------------|---------------|----------------|-------------|---------------|---------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------|
|                              |      | Sol Naturel   | Sol Référence | Sol Contaminé | Sol Artificiel | Sol Naturel | Sol Référence | Sol Contaminé | H <sub>10</sub> | H <sub>20</sub> | B <sub>2.5</sub> | B <sub>5</sub> |
| pH <sub>eau</sub>            | Orge | 6,61±0,0      | 7,97 ±0,0     | 6,54 ± 0,0    | 7,01±0,1       | 7,67 ±0,0   | 7,76 ± 0,0    | 7,35 ± 0,0    | 7,62 ± 0,1      | 7,92±0,0        | 7,93 ±0,1        | 8,14±0,1       |
|                              | Maïs |               |               |               | 6,44±0,1       | 7,62±0,0    | 8,41 ± 0,1    | 7,46±0,0      | 8,14± 0,1       | 8,07±0,1        | 8,39±0,1         | 7,99±0,1       |
| CE<br>(μS cm <sup>-1</sup> ) | Orge | 229           | 161,2 ±7,1    | 367± 8,2      | 560,4±0,0      | 81,6 ±0,9   | 111,5 ± 0,7   | 72,4 ± 0,6    | 482,6 ± 0,5     | 614,9±0,6       | 101,2 ±0,5       | 104,6±1,1      |
|                              | Maïs |               |               |               | 480,3±1,0      | 104,2±0,0   | 96,2 ± 0,1    | 91,8±1,4      | 432,2 ± 1,2     | 534,9±1,1       | 76,47±0,7        | 79,7±0,7       |



*Figure 26: Les plantes de l'orge (A) et du maïs (B) après 30 jours de culture dans les différents types de traitements.*

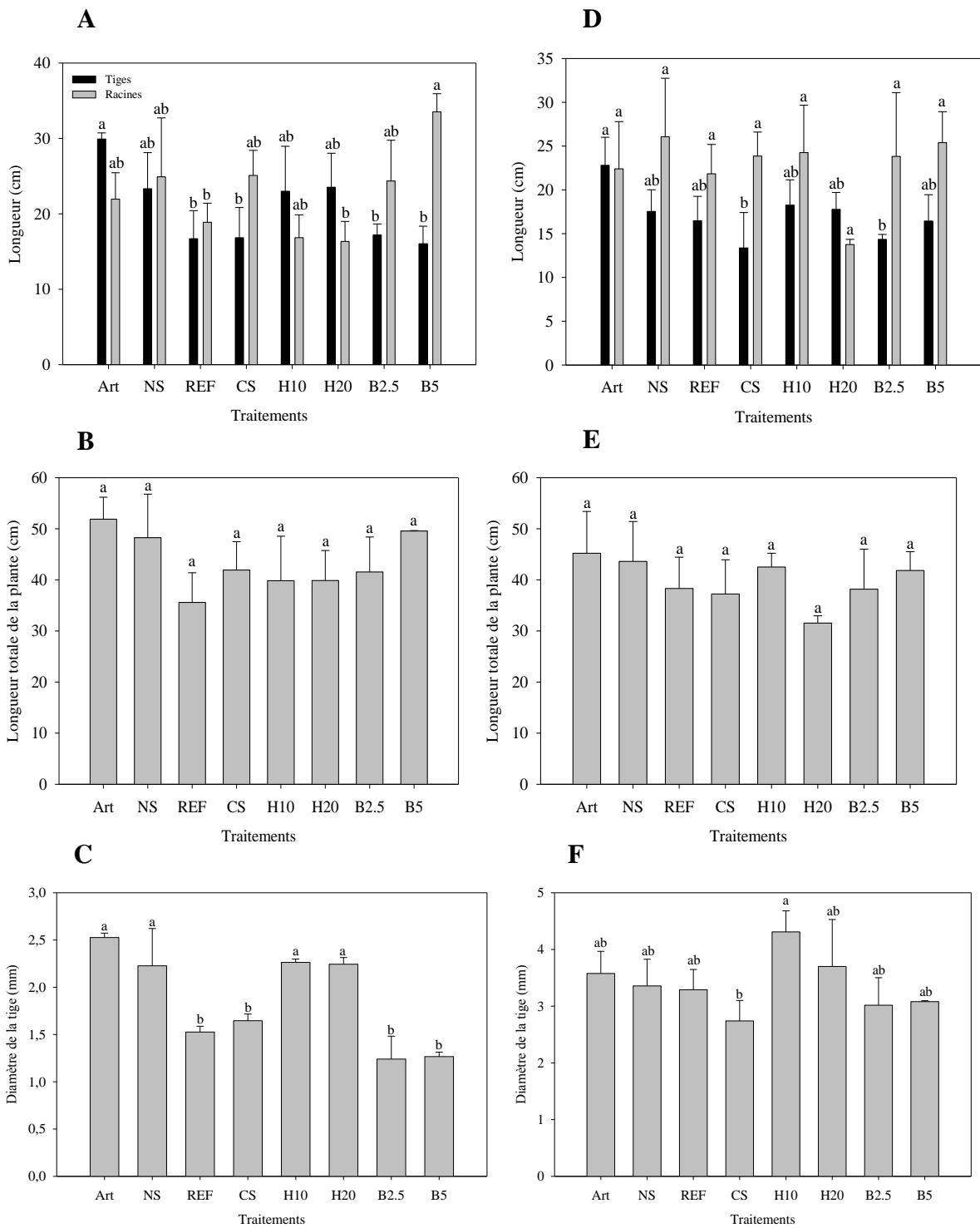


Figure 27: Longueur des racines et des tiges, longueur totale de la plante et le diamètre de la tige de l'orge (A, B et C) et du maïs (D, E et F) en présence des différents traitements.

Les barres d'erreur représentent l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives entre les traitements ( $p \leq 0,05$ ).



## II.2. Diamètre de la tige

### ✓ Orge :

Les résultats obtenus pour le diamètre de la tige montrent des différences significatives entre les traitements. La figure 27C montre que les deux traitements du fumier d'animaux ont un effet positif sur le diamètre de l'orge qui présente une valeur presque égale à celle obtenue pour le sol artificiel et le sol naturel. Cependant, l'amendement du biochar ne présente pas d'effet sur le diamètre et les valeurs obtenues sont comparables à celles trouvées pour le sol contaminé et le sol de référence et sont inférieures à celles des deux sols artificiel et naturel.

### ✓ Maïs :

De même, l'analyse de variance a révélé des différences significatives du diamètre des tiges du maïs entre les traitements utilisés. Les résultats obtenus montrent que la valeur la plus élevée est obtenue dans le cas du fumier d'animaux (figure 27F).

## II.3. Longueur et Nombre de feuilles

### ✓ Orge :

L'analyse de variance a mis en évidence des différences significatives aussi bien pour la longueur que pour le nombre de feuilles de l'orge entre les traitements utilisés (Figures 28 A et B). On note que la présence du fumier d'animaux augmente la longueur des feuilles et leurs nombres jusqu'à des valeurs similaires à celles trouvées pour le sol artificiel et le sol naturel. Par contre, l'amendement du biochar (B<sub>2,5</sub> et B<sub>5</sub>) ne présente pas d'effet sur ces deux paramètres.

### ✓ Maïs :

Les figures 28 D et E montrent que les plantes du maïs cultivées sur le sol contaminé en présence du fumier d'animaux présentent les valeurs les plus élevées pour les deux paramètres : nombre et longueur de feuilles.

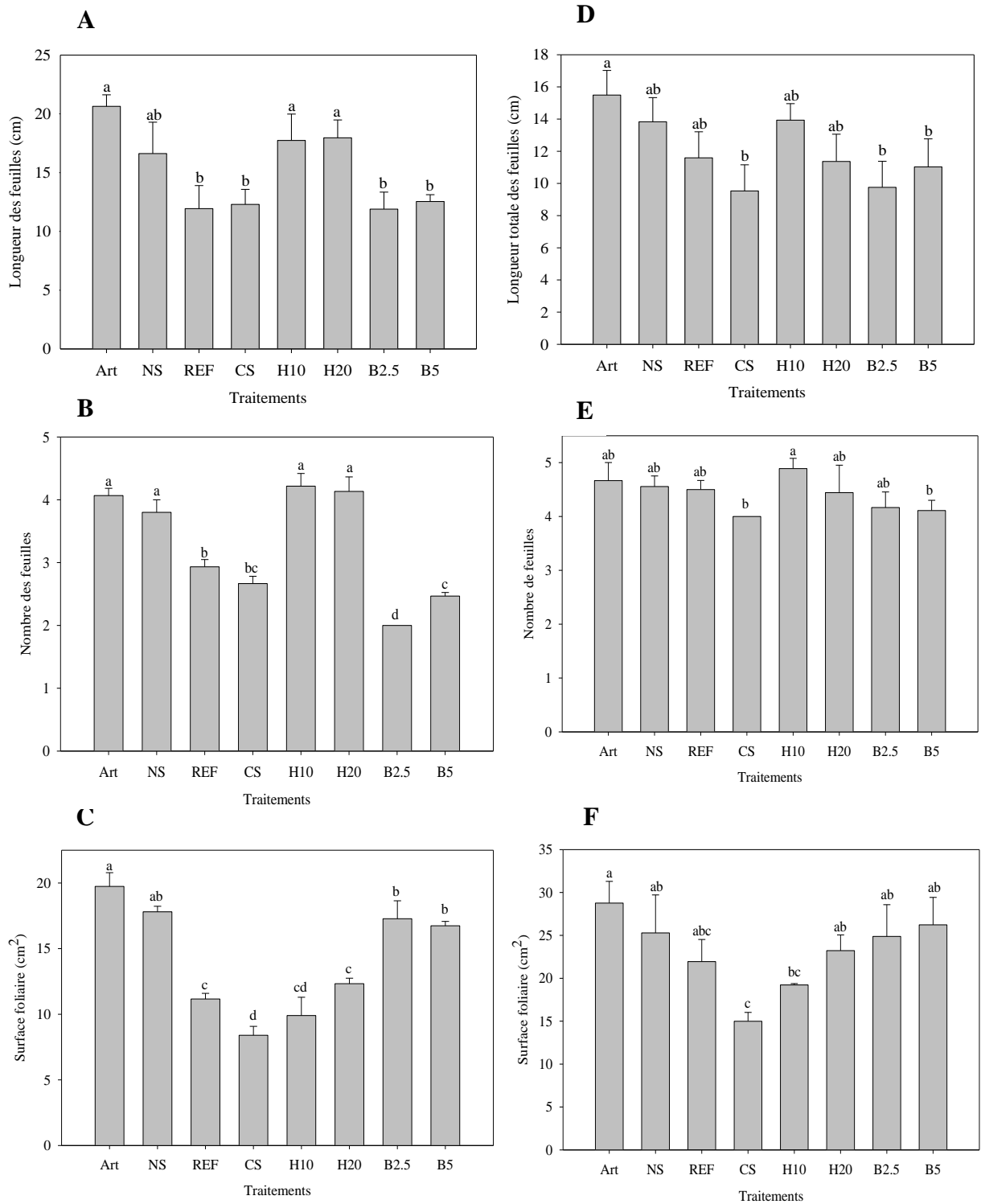


Figure 28: Longueur des feuilles, nombres des feuilles et la surface foliaire de l'orge (A, B et C) et du maïs (C, D et E) en présence des différents traitements.

Les barres d'erreur représentent l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives entre les traitements ( $p \leq 0,05$ ).

## II.4. Surface foliaire

### ✓ Orge :

Les résultats obtenus pour la surface foliaire de l'orge en présence des différents traitements utilisés sont présentés dans la figure 28 C. Selon cette figure, la valeur la plus faible de la surface foliaire est trouvée chez les plantes cultivées sur le sol contaminé. Par contre, l'ajout du biochar (B<sub>2,5</sub> et B<sub>5</sub>) et de fumier d'animaux (10% et 20% ) a influencé positivement ce paramètre et les plantes cultivées en présence du biochar ont développées des surfaces foliaires proches de celles trouvées sur le sol artificiel et le sol naturel.

### ✓ Maïs :

Les résultats de la surface foliaire du maïs sont presque similaires à ceux trouvés chez l'orge (Figure 28 F). La surface foliaire la plus faible a été obtenue pour le sol contaminé (15 cm<sup>2</sup>). Cependant, les valeurs les plus élevées sont obtenues chez les plantes cultivées en présence des traitements B<sub>5</sub>, B<sub>2,5</sub>, H<sub>20</sub> et H<sub>10</sub> (26,2 ; 24,9 ; 23,2 et 19,22 cm<sup>2</sup>, respectivement). Donc on note que la surface foliaire semble être stimulée en présence des différents traitements du biochar et de fumiers d'animaux.

## II.5. Teneur Relative en Eau (RWC)

### ✓ Orge :

Les résultats obtenus de la teneur relative en eau pour l'orge montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents traitements. Selon la figure 29 A, on note que les valeurs de la teneur relative en eau pour l'orge sont presque les même pour le sol contaminé que pour les autres traitements.

### ✓ Maïs :

La figure 29 C montre que les résultats obtenus de la teneur relative en eau du maïs cultivé en présence des différents traitements. L'analyse de variance a révélé qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents traitements. Nous constatons que pour tous les traitements utilisés, la teneur relative en eau présente la même valeur

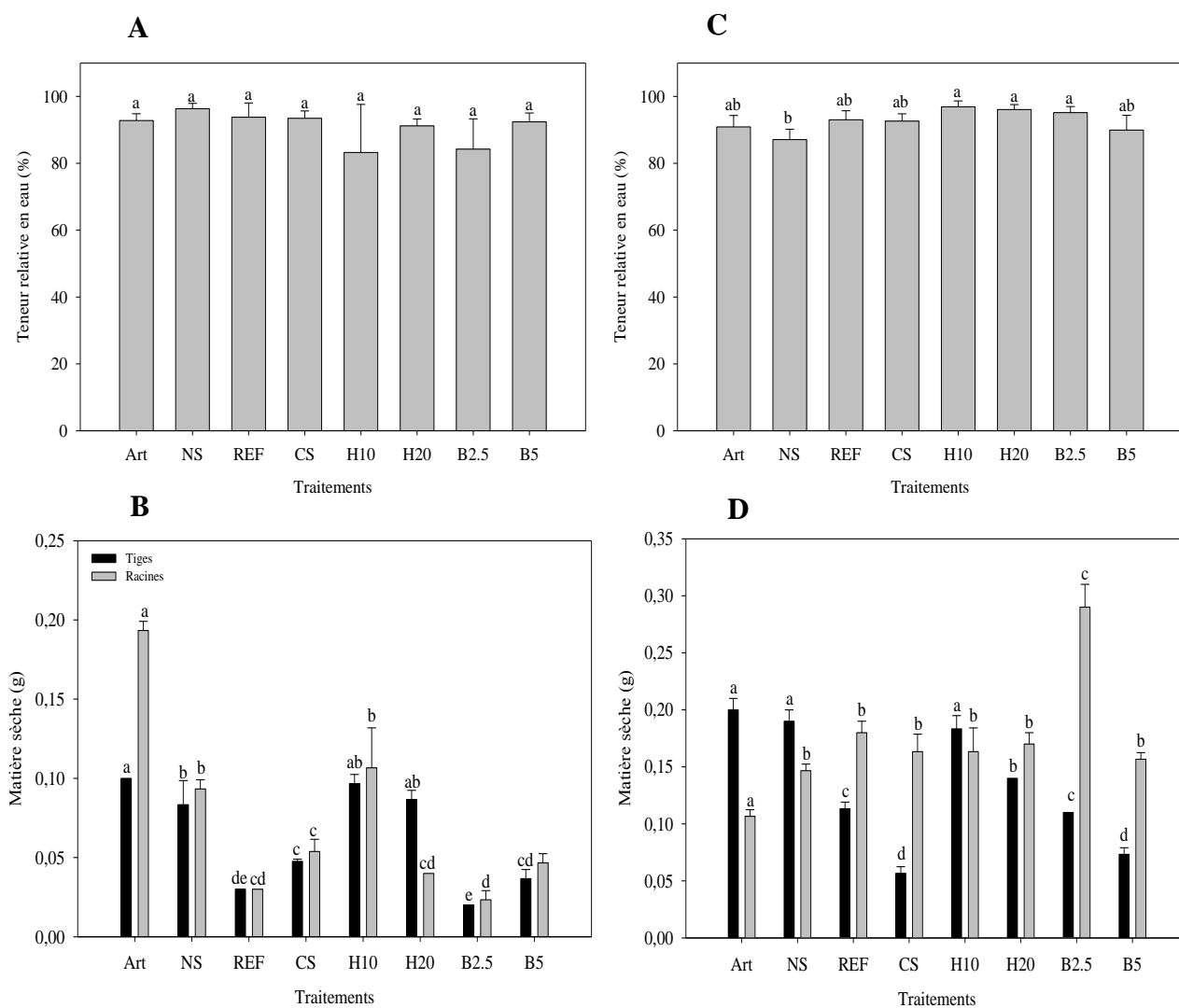


Figure 29: Teneur relative en eau et la matière sèche des tiges et des racines de l'orge (A et B) et du maïs (C et D) en présence des différents traitements.

Les barres d'erreur représentent l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives entre les traitements ( $p \leq 0,05$ ).

## II.6. Matière sèche

✓ Orge :

L'analyse de variance a montré que les traitements utilisés ont un effet significatif sur la matière sèche des racines et des tiges de l'orge. Les valeurs de ces deux paramètres les plus faibles sont trouvées pour le sol de référence et le traitement B<sub>2,5</sub> suivies par le sol contaminé et le traitement B<sub>5</sub> (figure 29 B).

✓ Maïs :

La matière sèche des racines et des tiges du maïs est significativement différente pour les différents traitements utilisés (Figure 29 D). L'utilisation des différents traitements a entraîné une augmentation importante de la matière sèche des tiges du maïs alors que celle des racines est presque la même dans la majorité des traitements. La valeur la plus élevée de la matière sèche est observée sur le traitement B<sub>2,5</sub>.

## II.7. La teneur des pigments

La figure 30 représente la teneur de différents pigments (chlorophylle a, chlorophylle b et caroténoïdes) des feuilles de l'orge et du maïs après 30 jours de culture en présence des différents traitements utilisés.

### II.7.1. Teneur en chlorophylle a

L'analyse de variance montre des différences significatives entre les traitements pour les deux espèces végétales (Figure 30 A). Les valeurs les plus faibles de la chlorophylle a des feuilles de l'orge sont observées dans le cas du sol de référence et le sol contaminé. Les différents types d'amendements organiques utilisés ont amélioré la teneur de la chlorophylle a par rapport aux deux sols: artificiel et naturel avec la valeur la plus élevée est observée en présence du 10% de l'humus naturel (0,948  $\mu\text{mol g}^{-1}$  FW). Les deux traitements de biochar (2,5 et 5%) ont également augmenté significativement la teneur de la chlorophylle a (0,687 et 0,707  $\mu\text{mol g}^{-1}$  FW, respectivement).

### II.7.2. Teneur en chlorophylle b

Les résultats obtenus montrent que l'évolution des teneurs en chlorophylle b est comparable à celle de la chlorophylle a (Figure 30 B). En effet, les amendements appliqués (à l'exception de H<sub>20</sub>) ont augmenté significativement la teneur de ce pigment en comparaison avec le sol contaminé.

### II.7.3. Teneur en chlorophylle totale (a+b)

La figure 30 C montre que la présence du biochar et des fumiers d'animaux provoque une augmentation de la teneur en chlorophylle totale des plantes en comparaison avec les plantes cultivées sur le sol contaminé. Les valeurs les plus élevées sont observées en présence du fumier d'animaux (H<sub>10</sub> pour la culture de l'orge et H<sub>20</sub> pour la culture du maïs). On note aussi que les doses de biochar (2,5 et 5%) ont presque la même valeur pour les deux cultures (orge : 0,9067 et 0,9033  $\mu\text{mol g}^{-1}$  FW ; maïs : 1,1333 et 1,1900  $\mu\text{mol g}^{-1}$  FW, respectivement).

#### II.7.4. Teneur en caroténoïdes

L'effet des amendements organiques s'est traduit également par une augmentation significative des teneurs en caroténoïdes chez la culture de l'orge, alors que l'augmentation observée chez la culture du maïs n'est pas significative (Figure 32 D). Le traitement H<sub>10</sub> a montré l'effet le plus élevé sur les caroténoïdes chez la culture de l'orge suivis par les deux traitements du biochar qui ont presque le même effet. Chez la culture du maïs, le traitement H<sub>20</sub> suivis du traitement H<sub>10</sub> ont augmenté la teneur en caroténoïdes par rapport aux deux traitements du biochar.

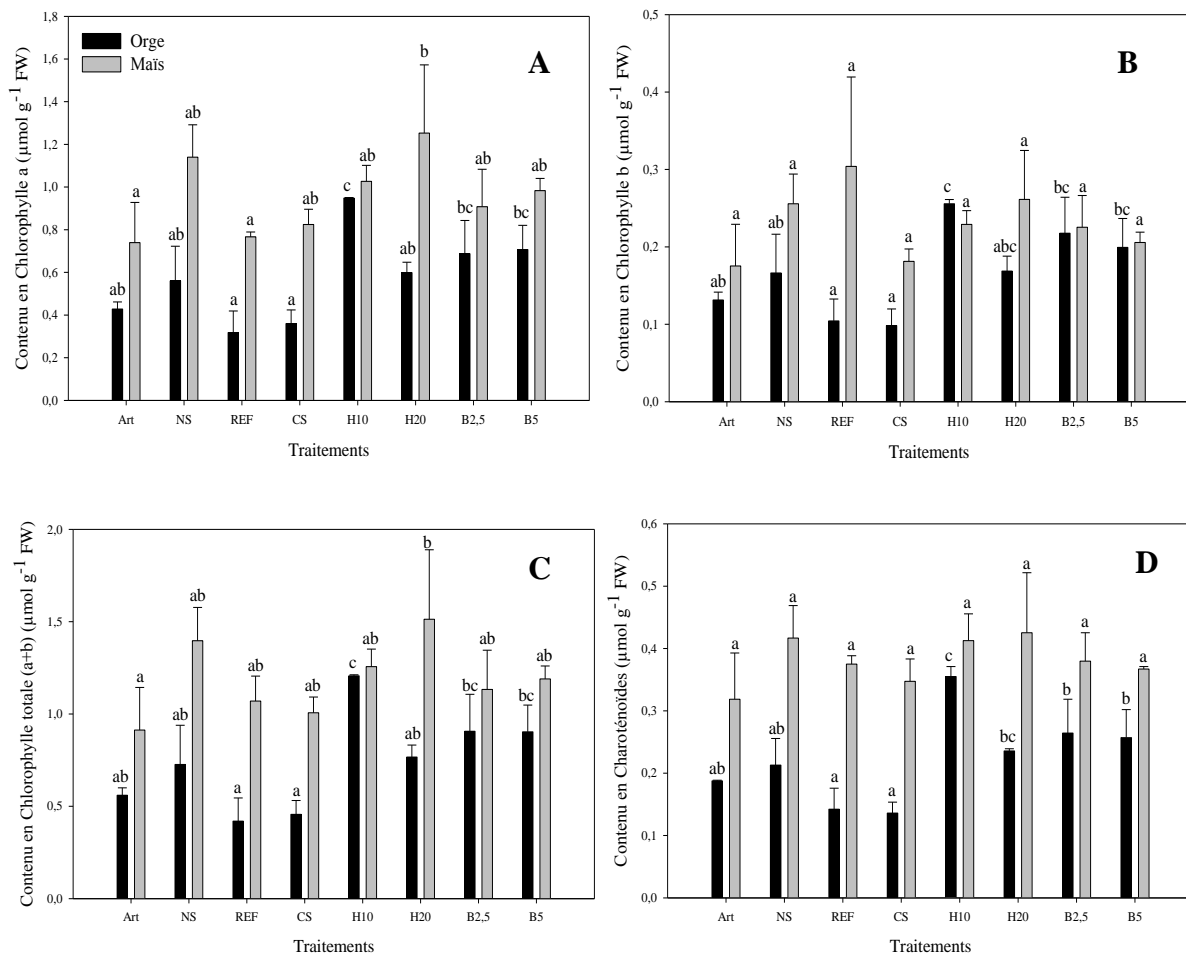


Figure 30: Teneur en Chlorophylle a, Chlorophylle b, Chlorophylle (a+b) et Caroténoïde des plantes de l'orge et du maïs cultivées en présence des différents traitements.

(Sol artificiel (Ar), sol naturel (Nat), sol de référence de la mine (REF), sol contaminés (CS)). Les barres d'erreur représentent l'écart type. Différentes lettres minuscules au-dessus des barres montrent des différences significatives entre les différents traitements dans chaque plante.

### III. Discussion

La réponse des deux espèces (orge et maïs) au stress induit par les ETM en présence ou en absence des différents types d'amendements organiques a été estimée par l'analyse de plusieurs paramètres morphologiques et physiologiques. Les résultats obtenus montrent que la présence des amendements organiques induit des effets aussi bien sur les caractéristiques du sol que sur les paramètres étudiés chez les plantes testées. En général, le biochar (2,5% et 5%) et les fumiers d'animaux (10% et 20%) ont augmenté le pH et la conductivité électrique du sol. Plusieurs travaux ont rapporté que le pH du sol augmente avec la présence des fumiers (Zhang, 1998 ; Ano and Ubochi, 2007; Elouear et al., 2016 ; Rizwan et al., 2017). Cette augmentation peut être due à la présence des composés similaires à la chaux tels que le calcium et le magnésium. Généralement, cette augmentation du pH en présence du biochar est due à leur alcalinité élevée qui est le résultat de la présence de plusieurs fonctions chimiques à savoir  $-COOH$  et  $-OH$  générées dans le biochar lors de la pyrolyse à des températures élevées (Yuan et al., 2011 ; Kim et al., 2015). D'autres travaux ont rapporté que l'augmentation du pH du sol à cause des amendements organiques peut réduire la disponibilité des ETM dans le sol (Kim et al., 2015; Rizwan et al., 2015, 2017; Shen et al., 2016; Xu et al., 2016).

D'autre part, les résultats obtenus au cours de ce travail montrent que la présence des ETM dans le sol contaminé entraîne une diminution de la majorité des paramètres morphologiques (la longueur des tiges et des racines, le diamètre de la tige et la matière sèche des racines et des tiges) en comparaison avec les plantes cultivées sur le sol artificiel et le sol naturel. En général, le stress causé par les éléments traces métalliques peut réduire la croissance et la masse des plantes exposées à ces éléments (Elloumi et al. 2007; Rehman et al. 2017).

Concernant, l'application des amendements organiques (fumier d'animaux et biochar), on constate que l'effet varie en fonction de plusieurs facteurs à savoir le type d'amendement, sa concentration et la plante étudiée. Les deux types d'amendements utilisés ont considérablement augmenté la longueur totale des plantes, les racines et les tiges et la surface foliaire des deux espèces étudiées. En effet, les teneurs de fumiers d'animaux ont montré l'effet le plus prononcé surtout pour le diamètre des tiges, la longueur et le nombre de feuilles des deux espèces végétales. Alors que, le biochar entraîne une augmentation de la surface foliaire. Plusieurs recherches ont rapporté que les amendements organiques jouent un rôle important dans le renforcement de la phytoremediation (Abbas et al. 2017; Rehman et al. 2017; Zhang et al. 2017). Ces amendements sont testés dans le cas de plusieurs espèces

végétales à savoir le blé (*Triticum aestivum*), le maïs (*Zea mays*), l'ivraie (*Lolium perenne*) (Ahmad et al. 2015; Bopp et al. 2016; Rehman et al. 2016). Rehman et al. (2016) et Al-Wabel et al. (2015) ont rapporté que le rôle positif des fumiers et du biochar sur la croissance du maïs. L'effet positif du biochar sur les traits morphologiques a été également observé chez d'autres types d'espèces végétales comme la tomate et le poivron (Graber et al. 2010).

De même, les amendements organiques utilisés ont augmenté les teneurs des chlorophylles a, b, totale (a+b) et les caroténoïdes. Plusieurs travaux ont rapporté que la présence du biochar induit une augmentation de la teneur en chlorophylle a et b des feuilles du blé (Abbas et al. , 2017). De même, l'utilisation du fumier et du biochar à des teneurs élevées dans des cultures de maïs a augmenté la chlorophylle totale et autres paramètres physiologiques comme le taux de photosynthèse, le taux de transpiration et la conductance stomatique (Rehman et al. 2016). L'utilisation des amendements organiques dans la phytoremediation et ses effets positifs sur la croissance des plantes a été rapportée par plusieurs auteurs (Abbas et al. 2017; Rehman et al. 2017; Rizwan et al. 2017).

#### IV. Conclusion

En conclusion, l'utilisation des amendements organiques dans un sol contaminé par les ETM montre un effet positif sur la croissance des deux espèces végétales : l'orge et le maïs. Le fumier d'animaux provoque une augmentation du diamètre des tiges, de la longueur et du nombre de feuilles, alors que le biochar entraîne une augmentation de la surface foliaire. Après 30 jours de culture, la dose de 10% de fumier d'animaux et 5% de biochar ont montré des effets positifs sur la majorité des paramètres mesurés de l'orge et du maïs en comparaison avec les autres concentrations. Ceci montre bien l'importance de l'utilisation de ces amendements organiques dans la phytoremediation des sites contaminés par les éléments traces métalliques.



*Conclusion Générale  
et Perspectives*

L'ensemble des résultats obtenus dans ce travail ont permis de mieux comprendre l'effet des ETM sur les plantes.

La première partie a été consacrée à l'étude de l'effet des ETM sur le pouvoir germinatif et la croissance des jeunes plantules de quelques espèces végétales (l'orge, le blé, le maïs, le fenugrec et le haricot). La germination est effectuée directement dans le sol de la mine de fer d'Ait Ammar (le sol de référence du site et le sol le plus contaminé). Aussi, ce test est effectué sur le papier filtre et le sol standard Européen (Lufa 2.2) en présence des concentrations croissantes de trois éléments métalliques: un élément non essentiels (le cadmium) et deux éléments indispensables au fonctionnement des plantes (le Fer et Zinc). Les résultats obtenus ont montré que la toxicité des éléments testés sur la germination des graines et la croissance de jeunes plantules est liée au métal utilisé, à la concentration appliquée, au substrat où les graines ont germé et à l'espèce végétale. D'autre part, nous avons remarqué que le stade de germination est généralement moins sensible à la toxicité aux éléments traces métalliques testés que le stade de développement de jeunes plantules. En plus, les racines ont montré une sensibilité importante aux éléments testés par rapport à la partie aérienne des plantules. Ceci est dû à cause de leur contact direct avec les substances toxiques et leur rôle majeur dans l'absorption. Pour la comparaison des trois éléments métalliques, on constate que c'est le Cd qui présente l'effet le plus toxique sur les paramètres mesurés suivi par le Fe. En plus, les résultats obtenus ont montré que l'effet des ETM augmente avec l'augmentation de la concentration appliquée. On note également une importante sensibilité des graines germées sur le papier filtre que sur le sol. Ceci est lié aux caractéristiques physico-chimiques du sol qui peuvent influencer la disponibilité des ETM aux plantes.

D'autre part, on note que d'une façon générale le sol de la mine de fer d'Ait Ammar contaminé par plusieurs éléments traces (Cd, Cr, Zn et Fe) ne présente pas d'effet significatif sur la germination des graines des espèces végétales étudiées (l'orge, le maïs et le fenugrec). En plus, les deux parties aérienne et souterraine sont mieux développées sur le sol contaminé que sur le sol Lufa 2.2 utilisé comme témoin. Ceci pourrait être expliqué du fait que le sol Lufa 2.2 contient une teneur faible en matière organique et une faible portion d'argile par rapport au sol de la mine d'Ait Ammar. Ces deux paramètres peuvent complexer les ETM du sol contaminé en diminuant leur disponibilité ce qui réduit leur passage vers les plantes. Concernant les espèces végétales testées, nous avons remarqué que ce sont les deux espèces : l'orge et le maïs qui présentent une certaine tolérance aux ETM.

Dans la deuxième partie de notre travail, nous avons étudié les potentialités phytoremediatrices d'*Eucalyptus globulus*. Les résultats obtenus de cette étude montrent que cette espèce se développe d'une façon normale sur un sol contaminé par les éléments traces métalliques puisque la majorité des paramètres de croissance ne sont pas affectés ou peu affectés. De même, on note que cette espèce présente une capacité d'accumuler quelques éléments métalliques comme le Fe et le Zn et les garder dans leurs systèmes racinaires en évitant leur transport vers les parties aériennes. L'ensemble de ces résultats montre bien qu'*E. globulus* présente certaines caractéristiques intéressantes qui peuvent être exploiter dans les programmes de phytoremédiation.

Dans la troisième partie de cette étude, nous avons étudié l'effet des amendements organiques (biochar et fumier d'animaux) ajoutés au sol contaminé sur la croissance des espèces végétales. Les résultats obtenus montrent bien que la présence du biochar et du fumier d'animaux dans le milieu de culture réduit l'effet des ETM sur tout pour l'orge et le maïs puisque les plantes présentent des valeurs des traits morphologiques et des teneurs en chlorophylle très élevées par rapport aux plantes cultivées sur le sol contaminé sans amendements. Ce résultat montre bien que les amendements organiques testés peuvent être utilisés pour renforcer la phytoremediation des sites contaminés par les éléments traces métalliques.

En général, l'utilisation des plantes dans la phytoremediation des sites contaminés par les ETM est devenue plus en plus un choix crucial pour limiter les effets secondaires et les inconvénients de l'utilisation des méthodes physico-chimiques. Le présent travail a bien montré que l'*Eucalyptus globulus* a montré une importante capacité d'accumuler les ETM dans les parties racinaires. Cette plante est un bon candidat d'être utilisé dans la phytostabilisation des éléments traces métalliques. Aussi, les résultats ont montré que l'ajout des amendements organiques (le biochar et les fumiers d'animaux) a un rôle majeur dans la réduction de la toxicité des ETM aux plantes car ces amendements ont augmenté la résistance de l'orge et du maïs aux ETM.

## Perspectives

Ce travail nous a permis de mieux comprendre la réponse de quelques espèces végétales vis-à-vis à la contamination métallique des sols miniers et l'effet des amendements organiques sur la croissance de ces espèces. Il a aussi mis en évidence des points à éclaircir et des travaux à compléter.

Nous suggérons que les tests de germination devraient être complété avec une étude de la croissance des plantes pour une longue période d'essai afin de mieux comprendre la réaction de ces plantes et ses capacités à résister à la contamination des sols par les ETM. En outre, des études plus détaillées sur la réponse des plantes en présence des ETM et des amendements organiques sont nécessaires en particulier la mesure des paramètres biochimiques et l'accumulation des métaux. De même, ce travail doit être complété par une étude moléculaire par la recherche des marqueurs liés à la tolérance des espèces végétales étudiées aux ETM, pour mieux comprendre la réaction de ces plantes vis-à-vis des ETM et comprendre l'effet des amendements organiques. Concernant les résultats obtenus pour l'espèce *E. globulus* doivent être poursuivies par une étude sur le terrain à grande échelle et durant une longue période.

*Références  
bibliographiques*

- Abbas, T., Rizwan, M., Ali, S., Zia-ur-Rehman, M., Farooq Qayyum, M., Abbas, F., Hannan, F., Rinklebe, J., Sik Ok, Y., 2017. Effect of biochar on cadmium bioavailability and uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in a soil with aged contamination. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 140, 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.028>
- Abdul-wahab, S.A., Marikar, F.A., 2012. The environmental impact of gold mines : pollution by heavy metals. *Cent. Eur. J. Eng* 2, 304–313. <https://doi.org/10.2478/s13531-011-0052-3>
- Acharya, S., Sharma, D.K., 2014. Study on the effects of heavy metals on seed germination and plant growth on *Jatropha curcas*. *Int. J. Agric. Sci. Res.* 3, 035–034.
- Adelusi, A.A., Aileme, J.D., 2006. Effects of Light and Nutrient Stress on Some Growth Parameters of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Res. J. Bot.* 1, 95–103. <https://doi.org/10.3923/rjb.2006.95.103>
- Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., Zia-ur-rehman, M., 2015. The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops : a review. *Env. Sci Pollut Res* 22, 8148–8162. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4496-5>
- Adriano, D.C., 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments- Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals, Second Edi. ed. Springer-Verlag New York Berlin Heidelberg in. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5>
- Agbenin, J.O., Olojo, L.A., 2004. Competitive adsorption of copper and zinc by a Bt horizon of a savanna Alfisol as affected by pH and selective removal of hydrous oxides and organic matter. *Geoderma* 119, 85–95. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(03\)00242-8](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(03)00242-8)
- Agnieszka, B., Tomasz, C., Jerzy, W., 2014. Chemical properties and toxicity of soils contaminated by mining activity. *Ecotoxicology* 23, 1234–1244. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1266-y>
- Agrawal, J., Sherameti, I., Varma, A., 2011. Detoxification of Heavy Metals: State of Art, in: Sherameti, I., Varma, La. (Eds.), *Detoxification of Heavy Metals*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-21408-0>
- Ahmad, I., Akhtar, M.J., Zahir, Z.A., Jamil, A., Ahmad, I., Al, E.T., 2012. Effect of Cadmium on Seed Germination and Seedling Growth of Four Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Cultivars. *Pak. J. Bot.* 44, 1569–1574.
- Ahmad, I., Akhtar, M.J., Zahir, Z.A., Mitter, B., 2015. Organic amendments: effects on cereals growth and cadmium remediation. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 12, 2919–2928. <https://doi.org/10.1007/s13762-014-0695-8>
- Ahmadpour, P., Ahmadpour, F., Mahmud, T.M.M., Abdu, A., Soleimani, M., Tayefeh, F.H., 2012. Phytoremediation of heavy metals: A green technology. 11, 14036–14043. <https://doi.org/10.5897/AJB12.459>
- Al-Wabel, M.I., Usman, A.R.A., El-Naggar, A.H., Aly, A.A., Ibrahim, H.M., Elmaghraby, S., Al-Omran, A., 2015. Conocarpus biochar as a soil amendment for reducing heavy metal availability and uptake by maize plants. *Saudi J. Biol. Sci.* 22, 503–511. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.003>
- Al Khateeb, W., Al-qwasemeh, H., 2014. Cadmium , copper and zinc toxicity effects on growth ,

- proline content and genetic stability of *Solanum nigrum* L., a crop wild relative for tomato; comparative study. *PhysiolMol Biol Plants* 20,31–39. <https://doi.org/10.1007/s12298-013-0211-5>
- Ali, H., Khan, E., Sajad, M.A., 2013. Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere* 91, 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Alloway, B.J., 2013. Heavy Metals in Soils - Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability, Third Edit. ed, Heavy metals in soils. Springer Dordrecht Heidelberg New York London. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-1344-1>
- Amira, M.S., Qados, A., 2015. Phytoremediation of Pb and Cd By Native Tree Species Grown in the Kingdom of Saudi Arabia. *Ind. J. Sci. Res. Tech.* 3, 22–34. <https://doi.org/10.5251/abjna.2015.6.1.8.21>
- Amna, Ali, N., Masood, S., Mukhtar, T., Kamran, M.A., Rafique, M., Munis, M.F.H., Chaudhary, H.J., 2015. Differential effects of cadmium and chromium on growth, photosynthetic activity, and metal uptake of *Linum usitatissimum* in association with *Glomus intraradices*. *Environ. Monit. Assess.* 187. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4557-8>
- Anderson, J.M., Chow, W.S., Park, Y.-I., 1995. The grand design of photosynthesis : Acclimation of the photosynthetic apparatus to environmental cues. *Photosynth. Res.* 46, 129–139.
- Angélica, M., Hauser-davis, R.A., Nunes, A., Souza, D., Pierre, A., 2016. Metal phytoremediation : General strategies , genetically modified plants and applications in metal nanoparticle contamination. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 134, 133–147. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.08.024>
- Anjos, C., Magalhães, C.M.F., Abreu, M.M., 2012. Metal (Al, Mn, Pb and Zn) soils extractable reagents for available fraction assessment: Comparison using plants, and dry and moist soils from the Braçal abandoned lead mine area, Portugal. *J. Geochemical Explor.* 113, 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2011.07.004>
- Ano, A.O., Ubochi, C.I., 2007. Neutralization of soil acidity by animal manures : mechanism of reaction. *African J. Biotechnol.* 6, 364–368. <https://doi.org/10.5897/AJB06.763>
- Antoniadis, V., Alloway, B.J., 2002. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage-amended soils. *Environ. Pollut.* 117, 515–521. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00172-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00172-5)
- Appenroth, K.-J., 2010. Definition of “Heavy Metals” and Their Role in Biological Systems, in: Sherameti, I., Varma, A. (Eds.), *Soil Heavy Metals*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02436-8>
- Araujo, A.S.F., Monteiro, R.T.R., 2005. Plant Bioassays to Assess Toxicity of Textile Sludge Ccmpost. *Sci. Agric.* 62, 286–290. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162005000300013>
- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24, 1–15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Arora, a, Sairam, R.K., Srivastava, G.C., 2002. Oxidative stress and oxidative system in plants. *Curr. Sci.* 82, 1227–1238.

- Arriagada, C., Pereira, G., García-Romera, I., Ocampo, J.A., 2010. Improved zinc tolerance in *Eucalyptus globulus* inoculated with *Glomus deserticola* and *Trametes versicolor* or *Corioliopsis rigida*. *Soil Biol. Biochem.* 42, 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.011>
- Asati, A., Pichhode, M., Nikhil, K., 2016. Effect of Heavy Metals on Plants : An Overview. *Int. J. Appl. or Innov. Eng. Manag.* 5, 56–66.
- Asensio, V., Vega, F.A., Singh, B.R., Covelo, E.F., 2013. Effects of tree vegetation and waste amendments on the fractionation of Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in polluted mine soils. *Sci. Total Environ.* 443, 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.09.069>
- Athar, R., Masood, A., 2002. Heavy metal toxicity : effect on plant growth and metal uptake by wheat, and on free living *Azotobacter*. *Water. Air. Soil Pollut.* 138, 165–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015594815016>
- Auguy, F., Fahr, M., Moulin, P., Brugel, A., Laplaze, L., Mzibri, M. El, Filali-Maltouf, A., Doumas, P., Smouni, A., 2013. Lead Tolerance and Accumulation in *Hirschfeldia incana*, a Mediterranean *Brassicaceae* from Metalliferous Mine Spoils. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061932>
- Avila, M., Perez, G., Esshaimi, M., Mandi, L., Ouazzani, N., Brianso, J.L., Valiente, M., 2012. Heavy Metal Contamination and Mobility at the Mine Area of Draa Lasfar (Morocco). *Open Environ. Pollut. Toxicol. J.* 3, 2–12. <https://doi.org/10.2174/1876397901203010002>
- Azooz, M.M., Abou-Elhamd, M.F., Al-Fredan, M.A., 2012. Biphasic effect of copper on growth, proline, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of wheat (*Triticum aestivum* cv. Hasaawi) at early growing stage. *Aust. J. Crop Sci.* 6, 688–694.
- Bae, J., Benoit, D.L., Watson, A.K., 2016. Effect of heavy metals on seed germination and seedling growth of common ragweed and roadside ground cover legumes. *Environ. Pollut.* 213, 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.11.041>
- Baker, A.J.M., Brooks, R.R., 1989. Terrestrial Higher Plants which Hyper- accumulate Metallic Elements - A Review of their Distribution , Ecology and Phytochemistry. *Biorecovery* 1, 81–126.
- Baker, A.J.M., Ernst, W.H.O., Van Der Ent, A., Malaisse, F., Ginocchio, R., 2010. Metallophytes : the unique biological resource , its ecology and conservational status in Europe , central Africa and Latin America, in: Batty, L.C., Hallberg, K.B. (Eds.), *Ecology of Industrial Pollution*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511805561.003>
- Baker, N.R., 2008. Chlorophyll Fluorescence : A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 89–113. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>
- Barceló, J., Poschenrieder, C., 2003. Phytoremediation : principles and perspectives. *Contrib. to Sci. Inst. d'Estudis Catalans, Barcelona* 2, 333–344.
- Barceló, J., Vazquez, M.D., Poschenrieder, C., 1988. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *New Phytol.* 108, 37–49. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1988.tb00202.x>
- Baumbach, H., 2012. Metallophytes and Metallicolous Vegetation : Evolutionary Aspects , Taxonomic



- Changes and Conservational Status in Central Europe, in: Tiefenbacher, J. (Ed.), Perspectives on Nature Conservation-Patterns, Pressures and Prospects. pp. 93–118. <https://doi.org/10.5772/30846>
- Becerril, J.M., Gonzalez-Murua, C., Munoz-Rueda, A., De Felipe, M.R., 1989. Changes induced by cadmium and lead in gas exchange and water relations of clover and lucerne. *Plant Physiol. Biochem.* 27, 913–918.
- Benkhadra, A., EL Abbaoui, A., 2006. Ressources minérales.
- Bewley, D., Black, M., 1982. Physiology and Biochemistry of seeds in relation to germination. Springer· Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-68643-6>
- Bhargava, A., Carmona, F.F., Bhargava, M., Srivastava, S., 2012. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. *J. Environ. Manage.* 105, 103–120. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.04.002>
- Bissonnette, L., St-Arnaud, M., Labrecque, M., 2010. Phytoextraction of heavy metals by two *Salicaceae* clones in symbiosis with *arbuscular mycorrhizal* fungi during the second year of a field trial. *Plant Soil* 332, 55–67. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0273-x>
- Björkman, O., Demmig, B., 1987. Planta characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, 489–504.
- Bojarczuk, K., 2004. Effect of Aluminium on the Development of Poplar (*Populus tremula* L. × *P. alba* L.) in vitro and in vivo. *Polish J. Environ. Stud.* 13, 261–266.
- Boopathy, R., 2000. Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresour. Technol.* 74, 63–67. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00144-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3)
- Bopp, C., Christl, I., Schulin, R., Evangelou, M.W.H., 2016. Biochar as possible long-term soil amendment for phytostabilisation of TE-contaminated soils. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 17449–17458. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6935-3>
- Boughattas, I., Hattab, S., Boussetta, H., Viarengo, A., Banni, M., Sforzini, S., 2016. Biomarker responses of *Eisenia andrei* to a polymetallic gradient near a lead mining site in North Tunisia. *Environ. Pollut.* 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.07.033>
- Boularbah, A., Schwartz, C., Bitton, G., Abouddrar, W., Ouhammou, A., Morel, J.L., 2006. Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. *Chemosphere* 63, 811–817. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.07.076>
- Boushaba, A., Michard, A., 2011. Le fer oolithique métamorphique d' Aït Ammar ( Massif Central ) / The Ait Ammar Metamorphic Oolitic Iro (central massif), in: Les Principales Mines Du Maroc / Main Mines of Morocco. pp. 273–277.
- Briat, J.-F., Lebrun, M., 1999. Plant responses to metal toxicity. *Plant Biol. Pathol.* 322, 43–54.
- Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I., Lux, A., 2007. Tansley review. Zinc in plants. *New phytologist.* 677–702. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x>

- C.R.I., 2015. Monographie région Béni Mellal -Khénifra.pdf.
- Caetano, A.L., Gonçalves, F., Sousa, J.P., Cachada, A., Pereira, E., Duarte, A.C., Ferreira, E., Pereira, R., 2012. Characterization and validation of a Portuguese natural reference soil to be used as substrate for ecotoxicological purposes. *J. Environ. Monit.* 14, 925–936. <https://doi.org/10.1039/c2em10827e>
- Candeias, C., Melo, R., Ávila, P.F., Ferreira da Silva, E., Salgueiro, A.R., Teixeira, J.P., 2014. Heavy metal pollution in mine-soil-plant system in S. Francisco de Assis - Panasqueira mine (Portugal). *Appl. Geochemistry.* 44, 12–26. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2013.07.009>
- Cao, D., Hu, J., Huang, X., Wang, X., Guan, Y., Wang, Z., 2008. Relationships between changes of kernel nutritive components and seed vigor during development stages of F1 seeds of sh2 sweet corn. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 9, 964–8. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0820084>
- Chaâbene, Z., Bassem, K., Zeineb, K., Grubb, C.D., Noureddine, D., Hafedh, M., Amine, E., 2015. Physiological responses of fenugreek seedlings and plants treated with cadmium. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 10679–10689. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4270-8>
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Habib, M., 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci.* 127, 139–147. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(97\)00115-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(97)00115-5)
- Chen, F., Wang, S., Mou, S., Azimuddin, I., Zhang, D., Pan, X., Al-Misned, F.A., Mortuza, M.G., 2015. Physiological responses and accumulation of heavy metals and arsenic of *Medicago sativa* L. growing on acidic copper mine tailings in arid lands. *J. Geochemical Explor.* 157, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2015.05.011>
- Chevrier, É., 2013. La phytoremédiation, une solution d’avenir pour le Québec. *Cent. Univ. Form. en environnement, Univ. Sherbrooke.* <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Chhotu and Fulekar, 2009. Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *African J. Biotechnol.* 8, 921–928. <https://doi.org/10.4314/ajb.v8i6.59987>
- Chibuïke, G.U., Obiora, S.C., 2014. Heavy metal polluted soils: Effect on plants and bioremediation methods. *Appl. Environ. Soil Sci.* 1–12. <https://doi.org/10.1155/2014/752708>
- Chillasse, L., Dakki, M., Abbassi, M., 2001. Valeurs et fonctions écologiques des Zones humides du Moyen Atlas (Maroc). *Humed. Méditerranéens* 1, 139–146
- Choi, J., Pak, C., Lee, C.W., 1996. Micro nutrient toxicity in French marigold. *J. Plant Nutr.* 19, 901–916. <https://doi.org/10.1080/01904169609365169>
- Chojnacka, K., Chojnacki, A., Górecka, H., Górecki, H., 2005. Bioavailability of heavy metals from polluted soils to plants. *Sci. Total Environ.* 337, 175–182. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.06.009>
- Christensen, M.L., Sommer, S.G., 2013. Manure Characterisation and Inorganic Chemistry, in: Sommer, Sven G., Christensen, M.L., Schmidt, T., Jensen, L.S. (Eds.), *Animal Manure Recycling-Treatment and Management.* Wiley, pp. 41–66. <https://doi.org/10.1002/9781118676677>.

- Christou, A., Theologides, C.P., Costa, C., Kalavrouziotis, I.K., Varnavas, S.P., 2017. Assessment of toxic heavy metals concentrations in soils and wild and cultivated plants species in Limni abandoned copper mining site, Cyprus. *J. Geochemical Explor.* 178, 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2017.03.012>.
- Cipriani, H.N., Bastos, A.R.R., de Carvalho, J.G., da Costa, A.L., Oliveira, N.P., 2012. Chromium Toxicity in Hybrid Eucalyptus (*Eucalyptus Urophylla* S. T. Blake X *Grandis* W. Hill Ex. Maiden) Cuttings. *J. Plant Nutr.* 35, 1618–1638. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.698345>.
- Civeira, M., Oliveira, M.L.S., Hower, J.C., Agudelo-Castañeda, D.M., Taffarel, S.R., Ramos, C.G., Kautzmann, R.M., Silvaa, L.F.O., 2016. Modification, adsorption, and geochemistry processes on altered minerals and amorphous phases on the nanometer scale: Examples from copper mining refuse, Touro, Spain. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 6535–6545. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5885-5>.
- Colombano, S., Saada, A., Guerin, V., Bataillard, P., Bellenfant, G., Beranger, S., Hube, D., Blanc, C., Zornig, C., Girardeau, I., 2010. Quelles techniques pour quels traitements - Analyse coûts-bénéfices. <https://doi.org/http://infoterre.brgm.fr/rapports/RP-58609-FR.pdf>.
- Connolly, E.L., Guerinot, M., 2002. Iron stress in plants. *Genome Biol.* 3, 1024.1–1024.4. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-8-reviews1024>.
- Coppen, J.J.W., 2002. *Eucalyptus: The genus Eucalyptus*. Taylor & Francis. [https://doi.org/10.1016/S0962-4562\(03\)00073-0](https://doi.org/10.1016/S0962-4562(03)00073-0)
- Day, A.D., Ludeke, K.L., 1993. *Plant Nutrients in Desert Environments*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-77652-6>
- De Alcântara, B.K., Pizzaia, D., Piotto, F.A., Borgo, L., Brondani, G.E., Azevedo, R.A., 2015. Temporal dynamics of the response to al stress in *Eucalyptus Grandis* × *Eucalyptus Camaldulensis*. *An. Acad. Bras. Cienc.* 87, 1063–1070. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140322>
- De Dorlodot, S., Lutts, S., Bertin, P., 2005. Effects of ferrous iron toxicity on the growth and mineral composition of an interspecific rice. *J. Plant Nutr.* 28, 1–20. <https://doi.org/10.1081/PLN-200042144>
- Dhindsa, R.S., Matowe, W., 1981. Drought Tolerance in Two Mosses : Correlated with Enzymatic Defence Against Lipid Peroxidation. *J. Exp. Bot.* 32, 79–91.
- Dhir, B., Sharmila, P., Saradhi, P.P., 2004. Hydrophytes lack potential to exhibit cadmium stress induced enhancement in lipid peroxidation and accumulation of proline. *Aquat. Toxicol.* 66, 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.08.005>
- Dinis, M.D.L., Fiùza, A.A., 2011. *Exposure Assessment to Heavy Metals in the Environment: Measures to Eliminate or Reduce the Exposure to Critical Receptors*, NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security. Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-0253-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-0253-0_2)
- Djondo, M.-Y., 1995. Propriétés d'échange ionique des sols ferrallitiques argileux de la vallée du Niari et sableux du plateau de Mbe-Bateke au Congo : application à la correction de leur acidité. Insitiut français de recherche scientifique pour le développement en coopération.

- Doganlar, Z.B., Doganlar, O., Erdogan, S., Onal, Y., 2012. Heavy metal pollution and physiological changes in the leaves of some shrub, palm and tree species in urban areas of Adana, Turkey. *Chem. Speciat. Bioavailab.* 24, 65–78. <https://doi.org/10.3184/095422912X13338055043100>.
- Drażkiewicz, M., Baszyński, T., 2005. Growth parameters and photosynthetic pigments in leaf segments of *Zea mays* exposed to cadmium, as related to protection mechanisms. *J. Plant Physiol.* 162, 1013–1021. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.10.010>
- Dua, M., Singh, A., Sethunathan, N., Johri, A.K., 2002. Biotechnology and bioremediation : successes and limitations. *Appl Microbiol Biotechnol* 59, 143–152. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1024-6>
- Ebbs, S.D., Kochian, L. V., 1997. Toxicity of Zinc and Copper to Brassica Species: Implications for Phytoremediation. *J. Environ. Qual.* 26, 776. <https://doi.org/10.2134/jeq1997.00472425002600030026x>.
- El Aafi, N., Saidi, N., Maltouf, A.F., Perez-Palacios, P., Dary, M., Brhada, F., Pajuelo, E., 2015. Prospecting metal-tolerant rhizobia for phytoremediation of mining soils from Morocco using *Anthyllis vulneraria* L. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 4500–4512. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3596-y>
- EL Founti, L., Saidi, N., Bouabdli, A., Saghi, M., Leblanc, M., 2003. Impact de la mine d’Aouli et de l’affluent Oued Za sur les sédiment et les matières en suspension de l’Oued Moulouya (Maroc). *Geomaghreb* 1, 31–36.
- El Hamiani, O., Khalil, H. El, Lounate, K., Sirguey, C., Hafidi, M., Bitton, G., Schwartz, C., Boularbah, A., 2010. Toxicity assessment of garden soils in the vicinity of mining areas in Southern Morocco. *J. Hazard. Mater.* 177, 755–761. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.096>
- El Rasafi, T., Nouri, M., Bouda, S., Haddioui, A., 2016. The Effect of Cd, Zn and Fe on Seed Germination and Early Seedling Growth of Wheat and Bean. *Ekológia (Bratislava)* 35, 213–223. <https://doi.org/10.1515/eko-2016-0017>
- El Rasafi, T., Nouri, M., Haddioui, A., 2017. Metals in mine wastes: environmental pollution and soil remediation approaches – a review. *Geosystem Eng.* 1–16. <https://doi.org/10.1080/12269328.2017.1400474>
- Elekes, C.C., 2014. Eco-Technological Solutions for the Remediation of Polluted Soil and Heavy Metal Recovery, in: Hernández-Soriano, M.C. (Ed.), *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination*. InTech, Rijeka, pp. 309–335. <https://doi.org/10.5772/57314>
- Elleuch, A., Chaâbene, Z., Grubb, D.C., Drira, N., Mejdoub, H., Khemakhem, B., 2013. Morphological and biochemical behavior of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) under copper stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 98, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.09.028>
- Elloumi, N., Abdallah, A.E. Ben, Rhouma, F.A.E., Ben, A.A.E., Bechir, R., 2007. Cadmium-induced growth inhibition and alteration of biochemical parameters in almond seedlings grown in solution culture. *Acta Physiol Plant* 29, 57–62. <https://doi.org/10.1007/s11738-006-0009-y>
- Elouear, Z., Bouhamed, F., Boujelben, N., Bouzid, J., 2016. Application of sheep manure and potassium fertilizer to contaminated soil and its effect on zinc, cadmium and lead accumulation

- by alfalfa plants. *Sustain. Environ. Res.* 26, 131–135. <https://doi.org/10.1016/j.serj.2016.04.004>.
- Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdorran, F., Xie, Y., 2015. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defence response. *Sci. World J.* 2015, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2015/756120>
- Ezeaku, P.I., 2012. Evaluating the influence of open cast mining of solid minerals on soil, landuse and livelihood systems in selected areas of Nasarawa State, North-Central Nigeria. *J. Ecol. Nat. Environ.* 4, 62–70. <https://doi.org/10.5897/JENE11.032>
- Fageria, N.K., Santos, A.B., Filho, M.P.B., Guimarães, C.M., 2008. Iron Toxicity in Lowland Rice. *J. Plant Nutr. Publ.* 31, 1676–1697. <https://doi.org/10.1080/01904160802244902>
- Fayiga, A.O., Saha, U.K., 2016. Soil pollution at outdoor shooting ranges: Health effects, bioavailability and best management practices. *Environ. Pollut.* 216, 135–145. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.062>
- Fernandes, J.C., Henriques, F.S., 1991. Biochemical, Physiological, and Structural Effects of Excess Copper in Plants. *Bot. Rev.* 57, 246–273.
- Fernández, S., Poschenrieder, C., Marcenò, C., Gallego, J.R., Jiménez-gámez, D., Bueno, A., A, E., 2017. Phytoremediation capability of native plant species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain. *J. Geochemical Explor.* 174, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.05.015>
- Fijałkowski, K., Kacprzak, M., Grobelak, A., Placek, A., Fijałkowski, K., Kacprzak, M., Grobelak, A., Placek, A., 2012. The influence of selected soil parameters on the mobility of heavy metals in soils. *Inżynieria i Ochr. Środowiska* 15, 81–92.
- Fine, P., Rathod, P.H., Beriozkin, A., Mingelgrin, U., 2013. Uptake of Cadmium by Hydroponically Grown, Mature *Eucalyptus Camaldulensis* Saplings and the Effect of Organic Ligands. *Int. J. Phytoremediation* 15, 585–601. <https://doi.org/10.1080/15226514.2012.723061>
- Fontes, R.L.F., Cox, F.R., 1998. Zinc toxicity in soybean grown at high iron concentration in nutrient solution. *J. Plant Nutr.* 21, 1723–1730. <https://doi.org/10.1080/01904169809365517>
- Fontes, R.L.F., Pereira, J.M.N., Neves, J.C.L., 2014. Uptake and translocation of Cd and Zn in two lettuce cultivars. *An. Acad. Bras. Cienc.* 86, 907–922. <https://doi.org/10.1590/0001-37652014117912>
- Frérot, H., Lefèbvre, C., Gruber, W., Collin, C., Santos, A. Dos, Escarré, J., 2006. Specific interactions between local metalicolous plants improve the phytostabilization of mine soils. *Plant Soil* 282, 53–65. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-5315-4>
- Gadd, G.M., 2004. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma* 122, 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.002>
- Gang, A., Vyas, H., Vyas, A., 2013. Toxic effect of heavy metals on germination and seedling growth of wheat. *J. Environ. Res. Dev.* 8, 206–213.
- Gapper, C., Dolan, L., 2006. Control of Plant Development by Reactive Oxygen Species 1. *Plant Physiol.* 141, 341–345. <https://doi.org/10.1104/pp.106.079079.vated>

- Garbisu, C., Alkorta, I., 2003. Basic concepts on heavy metal soil bioremediation. *Eur. J. Miner. Process. Environ. Prot.* 3, 58–66.
- Geets, J., Vangronsveld, J., Diels, L., Taghavi, S., Lelie, D. Van Der, 2008. Chemical Bioavailability in Terrestrial Environment, First edit. ed, *Developments in Soil Science*. [https://doi.org/10.1016/S0166-2481\(07\)32021-7](https://doi.org/10.1016/S0166-2481(07)32021-7)
- Gerhardt, K.E., Huang, X.D., Glick, B.R., Greenberg, B.M., 2009. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. *Plant Sci.* 176, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.09.014>
- Ghorbel, M.B.A., 2012. Contamination métallique issue des déchets de l'ancien site minier de Jebel Ressay : modélisation des mécanismes de transfert et conception de cartes d'aléa post-mine dans un contexte carbonaté et sous un climat semi-aride . Evaluation du risque pour la. University of Toulouse III - Paul Sabatier.
- Ghori, Z., Iftikhar, H., Bhatti, M.F., Nasar-Um-Minullah, Sharma, I., Kazi, A.G., Ahmad, P., 2015. Phytoextraction: The Use of Plants to Remove Heavy Metals from Soil, in: *Plant Metal Interaction: Emerging Remediation Techniques*. Elsevier Inc., pp. 361–384. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803158-2.00015-1>
- Ghosh, M., Singh, S.P., 2005. A Review on Phytoremediation of Heavy Metals and Utilization of It's by Products. *As. J. Energy Env* 6, 214–231. <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1088-2>
- Giarratano, E., Gil, M.N., Marinho, C.H., Malanga, G., 2016. Metals from mine waste as potential cause of oxidative stress in burrowing crab *Neohelice granulata* from San Antonio bay. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 132, 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.05.029>
- Gilani, S.R., Batool, M., Raza, S., Zaidi, A., Mahmood, Z., Bhatti, A.A., Durrani, A.I., 2015. Central nervous system (CNS) toxicity caused by metal poisoning : Brain as a target organ. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 28, 1417–1423.
- Giroto, E., Ceretta, C.A., Rossato, L. V., Farias, J.G., Tiecher, T.L., De Conti, L., Schmatz, R., Brunetto, G., Schetinger, M.R.C., Nicoloso, F.T., 2013. Triggered antioxidant defense mechanism in maize grown in soil with accumulation of Cu and Zn due to intensive application of pig slurry. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 93, 145–155. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.03.021>
- Gisbert, C., Ros, R., De Haro, A., Walker, D.J., Bernal, M.P., Serrano, R., Navarro-Aviñó, J., 2003. A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 303, 440–445. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)00349-8](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)00349-8)
- Gomes, M.A. da C., Hauser-Davis, R.A., de Souza, A.N., Vitoria, A.P., 2016. Metal phytoremediation: General strategies, genetically modified plants and applications in metal nanoparticle contamination. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 134, 133–147. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.08.024>
- González, Á., Chumillas, V., Lobo, C., Agroambiental, D.D.I., Henares, A. De, 2012. Effect of Zn , Cd and Cr on growth , water status and chlorophyll content of barley plants ( *H . vulgare* L .). *Agric. Sci.* 3, 572–581.

- González, I., Galán, E., Romero, A., 2011. Assessing Soil Quality in Areas Affected by Sulfide Mining. Application to Soils in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). *Minerals* 1, 73–108. <https://doi.org/10.3390/min1010073>
- Graber, E.R., Harel, Y.M., Kolton, M., Cytryn, E., Silber, A., 2010. Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soilless media. *Plant Soil* 337, 481–496. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0544-6>
- Graham, R.D., Stangoulis, J.C.R., 2003. Comparative Trace Element Nutrition Trace Element Uptake and Distribution in Plants 1. *J. Nutr.* 1502–1505.
- Gratão, P.L., Polle, A., Lea, P.J., Azevedo, R.A., 2005a. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Funct. Plant Biol.* 32, 481–494. <https://doi.org/10.1071/FP05016>
- Gratão, P.L., Prasad, M.N.V., Cardoso, P.F., Lea, P.J., Azevedo, R.A., 2005b. Phytoremediation: Green technology for the clean up of toxic metals in the environment. *Brazilian J. Plant Physiol.* 17, 53–64. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100005>
- Grisso, R., Alley, M., Holshouser, D., Thomason, W., 2009. Precision farming tools: soil electrical conductivity. *Virginia Coop. Ext.* 442, 1–6.
- Guilherme, M. de F.S., Oliveira, H.M., Silva, E. Da, 2015. Cadmium toxicity on seed germination and seedling growth of wheat *Triticum aestivum*. *Acta Sci. Biol. Sci.* 37, 499. <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v37i4.28148>
- Guo, T.R., Zhang, G.P., Zhang, Y.H., 2007. Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 57, 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.01.013>
- Gupta, N., Ram, H., Kumar, B., 2016. Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 15, 89–109. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9390-1>
- Gutiérrez, M., Mickus, K., Camacho, L.M., 2016. Abandoned Pb–Zn mining wastes and their mobility as proxy to toxicity: A review. *Sci. Total Environ.* 565, 392–400. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.143>
- Habiba, U., Ali, S., Farid, M., Shakoor, M.B., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbasi, G.H., Hayat, T., Ali, B., 2014. EDTA enhanced plant growth, antioxidant defense system, and phytoextraction of copper by *Brassica napus* L. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 1534–1544. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3431-5>
- Hakeem, Khalid R., Sabir, M., Öztürk, M., Mermut, A.R., 2015. *Soil Remediation and Plants Prospects and Challenges*. Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Hao, Q., Jiang, C., 2015. Heavy metal concentrations in soils and plants in Rongxi Manganese Mine of Chongqing, Southwest of China. *Acta Ecol. Sin.* 35, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2015.01.002>
- Hartman, H.L., Mutmansky, J.M., 2002. Introduction to mining, in: *Introductory Mining Engineering*. Wiley, pp. 1–24.

- Hasan, K.M., Cheng, Y., Kanwar, M.K., Chu, X., Ahammed, G.J., Qi, Z.-Y., 2017. Responses of Plant Proteins to Heavy Metal Stress — A Review. *Front. Plant Sci.* 8, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01492>
- Hatamzadeh, A., Reza, A., Sharaf, N., Vafaei, M.H., 2012. Effect of some heavy metals (Fe, Cu and Pb) on seed germination and incipient seedling growth of *Festuca rubra* ssp. *commutata* (*Chewings fescue*). *Int. J. Agric. Crop Sci.* 4, 1068–1073.
- Huang, P.M., Li, Y., Sumner, M.E., 2012. *Handbook of Soil Sciences: Properties and Processes*, 2<sup>nd</sup> Ed. ed. CRC Press Taylor & Francis Group. <https://doi.org/10.13140/2.1.3758.1120>
- Hussain, I., Iqbal, M., Qurat-Ul-Ain, S., Rasheed, R., Mahmood, S., Perveen, A., Wahid, A., 2012. Cadmium Dose and Exposure-time Dependent Alterations in Growth and Physiology of Maize (*Zea mays*). *Int. J. Agric. Biol.* 16, 959–964.
- Iqbal, M.Z., Rahmati, K., 1992. Tolerance of *Albizia lebbek* to Cu and Fe application. *Ekol.* 11, 427–430.
- Islam, K.R., Muhammad, S., 2007. Toxic effects of heavy metals on early growth and tolerance of cereal crops. *Pak. J. Bot.* 39, 451–462.
- Jadia, C., Fulekar, M.H., 2009. Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *African J. Biotechnol.* 8, 921–928. <https://doi.org/10.4314/ajb.v8i6.59987>
- Jadia, C.D., Fulekar, M.H., 2008. Phytoremediation: The application of vermicompost to remove zinc, cadmium, copper, nickel and lead by sunflower plant. *Environ. Eng. Manag. J.* 7, 547–558.
- Jan, S., Parray, J.A., 2016. *Approaches to Heavy Metal Tolerance in Plants*. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-1693-6>
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S., 2009. Heavy metal toxicity: effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *Int. J. Plant Prod.* 3.
- Kabata-Pendias, A., 2004. Soil-plant transfer of trace elements - An environmental issue. *Geoderma* 122, 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.004>
- Kabata-pendias, A., Mukherjee, A.B., 2007. *Trace Elements from Soil to Human*, First Edit. ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-32714-1>
- Kabata-pendias, A., Pendias, H., 2001. *Trace Elements in Soils and Plants*, 3<sup>rd</sup> ed. ed. CRC Press LLC.
- Kavamura, V.N., Esposito, E., 2010. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. *Biotechnol. Adv.* 28, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.09.002>
- Kavuličová, J., Kaduková, J., Ivánová, D., 2012. The Evaluation of Heavy Metal Toxicity in Plants Using the Biochemical Tests. *Nov. Biotechnol. Chim.* 11, 101–110. <https://doi.org/10.2478/v10296-012-0011-2>
- Kevresan, S., Kirsek, S., Kandrak, J., Kelemen, Petrovic, N., Kelemen, D.J., 2003. Dynamics of cadmium distribution in the intercellular space and inside cells in soybean roots, stems and



- leaves. *Biol. Plant.* 46, 46: 85–88.
- Khalid, S., Shahid, M., Niazi, N.K., Murtaza, B., Bibi, I., Dumat, C., 2016. A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils. *J. Geochemical Explor.* 182, 247–268. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.11.021>
- Khalil, A., Hanich, L., Bannari, A., Zouhri, L., Pourret, O., Hakkou, R., 2013. Assessment of soil contamination around an abandoned mine in a semi-arid environment using geochemistry and geostatistics: Pre-work of geochemical process modeling with numerical models. *J. Geochemical Explor.* 125, 117–129. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.11.018>
- Khalil, A., Hanich, L., Hakkou, R., Lepage, M., 2014. GIS-based environmental database for assessing the mine pollution: A case study of an abandoned mine site in Morocco. *J. Geochemical Explor.* <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.03.023>
- Kim, H.S., Kim, K.R., Kim, H.J., Yoon, J.H., Yang, J.E., Ok, Y.S., Owens, G., Kim, K.H., 2015. Effect of biochar on heavy metal immobilization and uptake by lettuce (*Lactuca sativa* L.) in agricultural soil. *Environ. Earth Sci.* 74, 1249–1259. <https://doi.org/10.1007/s12665-015-4116-1>
- Kim, S.A., Guerinot, M. Lou, 2007. Mining iron: Iron uptake and transport in plants. *FEBS Lett.* 581, 2273–2280. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.043>
- Kranner, I., Colville, L., 2011. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environ. Exp. Bot.* 72, 93–105. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.005>
- Krause, G.H., Weis, E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 313–349. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.001525>
- Kuiper, I., Lagendijk, E.L., Bloemberg, G. V, Lugtenberg, B.J.J., 2004. Rhizoremediation: A Beneficial Plant-Microbe Interaction Bioremediation. *Mol Plant Microbe Interact.* 17, 6–15. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.1.6>
- Kumar, K.S., Dahms, H., Lee, J., Chul, H., Chan, W., 2014. Algal photosynthetic responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 104, 51–71. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.01.042>
- Kushwaha, A., Rani, R., Kumar, S., Gautam, A., 2016. Heavy metal detoxification and tolerance mechanisms in plants: Implications for phytoremediation. *Environ. Rev.* 24, 39–51. <https://doi.org/10.1139/er-2015-0010>
- Kwon, J.C., Nejad, Z.D., Jung, M.C., 2016. Arsenic and heavy metals in paddy soil and polished rice contaminated by mining activities in Korea. *Catena* 148, 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.01.00>
- L’Huillier, L., 1994. Biodisponibilité du nickel dans les sols ferrallitiques ferritiques de Nouvelle-Calédonie: effets toxiques de Ni sur le développement et la physiologie du maïs. Université de Montpellier II. <https://doi.org/tel-01512558>
- Laghlimi, M., Baghdad, B., Hadi, H. El, Bouabdli, A., 2015. Phytoremediation Mechanisms of Heavy Metal Contaminated Soils: A Review. *Open J. Ecol.* 5, 375–388. <https://doi.org/10.4236>

[/oje.2015.58031](#)

- Lalelou, F.S., Fateh, M., 2014. Effects of different concentrations of zinc on chlorophyll, starch, soluble sugars and proline content in Cucurbita pepo. Int. J. Biosci. 4, 6–12.
- Laney, A.S., Weissman, D.N., 2014. Respiratory Diseases Caused by Coal Mine Dust. J Occup Env. Med. 8, 583–592. <https://doi.org/10.1097/JOM.0000000000000260>
- Lasat, M.M., 2002. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. J. Environ. Qual. 31, 109–120.
- Lasat, M.M., 1997. The Use of Plants for the Removal of Toxic Metals from Contaminated Soil. Am. Assoc. Adv. Sci. Environ. Sci. Eng. Fellow 18, 359–362. <https://doi.org/10.1080/09593331808616549>
- Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C.A., Hockaday, W.C., Crowley, D., 2011. Biochar effects on soil biota - A review. Soil Biol. Biochem. 43, 1812–1836. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.04.022>
- Li, G., Wan, S., Zhou, J., Yang, Z., Qin, P., 2010. Leaf chlorophyll fluorescence , hyperspectral reflectance , pigments content , malondialdehyde and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt stress levels. Ind. Crops Prod. 31, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.015>
- Li, J., Xie, Z.-M., Zhu, Y.-G., Naidu, R., 2005. Risk assessment of heavy metal contaminated soil in the vicinity of a lead/zinc mine. J. Environ. Sci. IOS Press. 17, 881–885.
- Lin, D., Xing, B., 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. Environ. Pollut. 150, 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.01.016>
- Lingua, G., Franchin, C., Todeschini, V., Castiglione, S., Biondi, S., Burlando, B., Parravicini, V., Torrigiani, P., Berta, G., 2008. *Arbuscular mycorrhizal* fungi differentially affect the response to high zinc concentrations of two registered poplar clones . Environ. Pollut. 153. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.07.012>
- Lone, M.I., He, Z., Stoffella, P.J., Yang, X., 2008. Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: progresses and perspectives. J. Zhejiang Univ. Sci. B 9, 210–220. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0710633>
- Long, S.P., Humphries, S., Falkowski, P.G., 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1994. 45.
- Lottermoser, B., 2010. Mine Wastes - Characterization, Treatment and Environmental Impacts Title, Third Edit. ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-12419-8>
- Luo, J., Qi, S., Peng, L., Wang, J., 2015. Phytoremediation efficiency of Cd by *Eucalyptus globulus* transplanted from polluted and unpolluted sites. Int. J. Phytoremediation 18, 308–314. <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1094446>
- Lux, A., Martinka, M., Vaculík, M., White, P.J., 2011. Root responses to cadmium in the rhizosphere: A review. J. Exp. Bot. 62, 21–37. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq281>

- Madani, S., Coors, A., Haddioui, A., Ksibi, M., Pereira, R., Paulo Sousa, J., Römbke, J., 2015. Effects of contaminated soils from a former iron mine (Ait Amar, Morocco) on enchytraeids (*Enchytraeus bigeminus*) and predatory mites (*Hypoaspis aculeifer*) in standard laboratory tests. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 119, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.040>
- Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M.K., Lahori, A.H., Wang, Q., Li, R., Zhang, Z., 2016. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 126, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.023>
- Maisto, G., Santorufo, L., Arena, C., 2013. Heavy metal accumulation in leaves affects physiological performance and litter quality of *Quercus ilex* L. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 176, 776–784. <https://doi.org/10.1002/jpln.201200053>
- Maleki, A., Karimi, P., Mohammadi, S., 2013. Environmental effects of mining from Qorveh city mines (With emphasis on Galali Iron Ore). *J. Humanit. Soc. Sci.* 12, 55–63.
- Mamokete, D.N.V., Tsubo, M., Walker, S., Newby, T., 2017. Soil chemical properties and plant species diversity along a rainfall gradient in semi-arid grassland of South Africa. *Plant Ecol. Evol.* 150, 35–44. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2017.1260>
- Marques, C.R., Caetano, A.L., Haller, A., Gonc, F., Pereira, R., Römbke, J., 2014. Toxicity screening of soils from different mine areas — A contribution to track the sensitivity and variability of *Arthrobacter globiformis* assay 274, 331–341. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.03.066>
- Maxwell, K., Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence — a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51, 659–668.
- Mclaughlin, M.J., Zarcinas, B.A., Stevens, D.P., Cook, N., 2000. Soil testing for heavy metals. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31, 1661–1700. <https://doi.org/10.1080/00103620009370531>
- Meeinkuirt, W., Pokethitiyook, P., Tanhan, P., Chaiyarat, R., Studies, R., 2012. Phytostabilization of a pb- contaminated mine tailing by various tree species in pot and field. *Int. J. Phytoremediation* 14, 925–938. <https://doi.org/10.1080/15226514.2011.636403>
- Mehraban, P., Zadeh, A.A., Sadeghipour, H.R., 2008. Iron Toxicity in Rice (*Oryza sativa* L.), under Different Potassium Nutrition. *Asian J. Plant Sci.* 7, 251–259. <https://doi.org/10.3923/ajps.2008.251.259>
- Mench, M., Lepp, N., Bert, V., Schwitzguébel, J.P., Gawronski, S.W., Schröder, P., Vangronsveld, J., 2010. Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: Outcomes, assessment and outlook from COST Action 859. *J. Soils Sediments* 10, 1039–1070. <https://doi.org/10.1007/s11368-010-0190-x>
- Mendez, M.O., Neilson, J.W., Maier, R.M., 2008. Characterization of a Bacterial Community in an Abandoned Semiarid Lead-Zinc Mine Tailing Site. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 3899–3907. <https://doi.org/10.1128/AEM.02883-07>
- Meng, H. qi, Xu, M. gang, Lü, J. long, He, X. hua, Li, J. wei, Shi, X. jun, Peng, C., Wang, B. ren, Zhang, H. min, 2013. Soil pH dynamics and nitrogen transformations under long-term chemical fertilization in four typical chinese croplands. *J. Integr. Agric.* 12, 2092–2102. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60398-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60398-6)

- Merchant, A., Callister, A., Arndt, S., Tausz, M., Adams, M., 2007. Contrasting physiological responses of six *Eucalyptus* species to water deficit. *Ann. Bot.* 100, 1507–1515. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm234>.
- Meuzard, M., Monvoisin, R.G.-, 2014. Fiche marché: Le secteur des mines au Maroc. Casablanca.
- Michard A., Saddiqi O., Chalouan A., Rjimati E.C. & Mouttaqi A., 2011: New Geological And Mining Guidebooks Of Morocco, In: Main Mines Of Morocco, Volume 9 (Notes & Mém. n° 564). Edited By : A. Mouttaqi, E.C. Rjimati, L. Maacha, A. Michard, A. Soulaïmani & H. Ibouh. Ministry Of Energy, Mines, Water and the Environment, Mining Development Direction, Morocco. pp: 375. <https://geograchid.blogspot.com/2016/05/Nouveaux-guides-geologiques-du-Maroc.html>.
- Mileusnić, M., Mapani, B.S., Kamona, A.F., Ružičić, S., Mapaire, I., Chimwamurombe, P.M., 2014. Assessment of agricultural soil contamination by potentially toxic metals dispersed from improperly disposed tailings, Kombat mine, Namibia. *J. Geochemical Explor.* <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.01.009>
- Mirshekali, H., Hadi, H., Amirnia, R., Khodaverdiloo, H., 2012. Contents of sorghum (*Sorghum bicolor*) and common lambsquarter (*Chenopodium album*). *Int. J. Agric. Res. Rev.* 2, 247–254.
- Mok, H.F., Majumder, R., Laidlaw, W.S., Gregory, D., Baker, A.J.M., Arndt, S.K., 2013. Native Australian Species are Effective in Extracting Multiple Heavy Metals from Biosolids. *Int. J. Phytoremediation* 15, 615–632. <https://doi.org/10.1080/15226514.2012.723063>
- Moller, I.M., Jensen, P.E., Hansson, A., 2007. Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 459–483. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.58.032806.103946>
- Monterroso, C., Rodríguez, F., Chaves, R., Diez, J., Becerra-Castro, C., Kidd, P.S., Macías, F., 2014. Heavy metal distribution in mine-soils and plants growing in a Pb/Zn-mining area in NW Spain. *Appl. Geochemistry* 44, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2013.09.001>
- Montoroi, J.P., 1997. Conductivité électrique de la solution du sol et d'extraits aqueux de sol. Application à un sol sulfaté acide salé de Basse-Casamance (Sénégal). *Etude Gest. des sols* 4, 279–298.
- Moosavi, S.A., Gharineh, M.H., Tavakkol Afshari, R., Ebrahimi, A., 2012. Effects of Some Heavy Metals on Seed Germination Characteristics of Canola (*Barassica napus*), Wheat (*Triticum aestivum*) and Safflower (*Carthamus tinctorious*) to Evaluate Phytoremediation Potential of These Crops. *J. Agric. Sci.* 4, 11–19. <https://doi.org/10.5539/jas.v4n9p11>
- Morrissey, J., Guerinot, M. Lou, 2009. Iron Uptake and Transport in Plants. *Plant Membr. Vacuolar Transp.* 109, 149–172. <https://doi.org/10.1021/cr900112r.Iron>
- Mughini, G., Alianiello, F., Benedetti, A., Mughini Gras, L., Gras, M.A., Salvati, L., 2013. Clonal variation in growth, arsenic and heavy metal uptakes of hybrid Eucalyptus clones in a Mediterranean environment. *Agrofor. Syst.* 87, 755–766. <https://doi.org/10.1007/s10457-013-9594-0>
- Munees, A., 2012. Implications of bacterial resistance against heavy metals in bioremediation: A review. *IIOAB J.* 3, 39–46.

- Munzuroglu, O., Geckil, H., 2002. Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 43, 203–213. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-1116-4>
- Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S.I., 2007. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. Biochim. Biophys. Acta 1767, 414–421. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.11.019>
- Murchie, E.H., Lawson, T., 2013. Chlorophyll fluorescence analysis : a guide to good practice and understanding some new applications. J. Exp. Bot. 64, 3983–3998. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert208>
- Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., Sreekanth, T.V.M., 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. Environ. Chem. Lett. 8, 199–216. <https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
- Nagaraju, A., Kumar, K.S., Thejaswi, A., 2013. Evaluation of Plants Growing on Lead Mine Spoils : Significance for Abandoned Mine Reclamation in Andhra Pradesh , India. Resour. Environ. 3, 155–162. <https://doi.org/10.5923/j.re.20130305.07>
- Neiva, A.M.R., Antunes, I.M.H.R., Carvalho, P.C.S., Santos, A.C.T., 2016a. Uranium and arsenic contamination in the former Mondego Sul uranium mine area , Central Portugal. J. Geochemical Explor. 162, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2015.12.004>
- Neiva, A.M.R., Carvalho, P.C.S. De, Antunes, M.I.R.H., Pinto, C.M.M., Dos Santos, A.C.T., Cunha, P.P., Costa, M.M., 2016b. Spatial variability of soils and stream sediments and the remediation effects in a Portuguese uranium mine area. Chemie der Erde - Geochemistry. <https://doi.org/10.1016/j.chemer.2016.08.003>
- Nelson, D.M., 2016. Heavy metal accumulation in urban soil : a phytoextraction method review, Open Access Master's Report.
- Nematian, M.A., Kazemeini, F., 2013. Accumulation of Pb , Zn , Cu and Fe in plants and hyperaccumulator choice in Galali iron mine area ,. Int. J. Agric. Crop Sci. 5, 426–432.
- Nenova, V., 2006. Effect of iron supply on growth and photosystem II efficiency of pea plants. Gen. Appl. Plant Physiol. 81–90.
- Nirola, R., Megharaj, M., Aryal, R., Thavamani, P., 2016. Stress responses and specific metal exclusion on mine soils based on germination and growth studies by Australian golden wattle. Ecol. Indic. 71, 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.06.062>
- Nouri, J., Khorasani, N., Lorestani, B., Karami, M., Hassani, A.H., Yousefi, N., 2009. Accumulation of heavy metals in soil and uptake by plant species with phytoremediation potential. Environ. Earth Sci. 59, 315–323. <https://doi.org/10.1007/s12665-009-0028-2>
- Nouri, M., Gonçalves, F., Sousa, J.P., Römbke, J., Ksibi, M., 2014. Metal concentrations and metal mobility in Ait Ammar Moroccan mining site. J. Mater. Environ. Sci 5, 271–280.
- Nouri, M., Gonçalves, F., Sousa, J.P., Römbke, J., Ksibi, M., Pereira, R., Haddioui, A., 2013. Metal and Phosphorus Uptake by Spontaneous Vegetation in an abandoned iron mine from a Semiarid Area in Center Morocco : Implications for Phytoextraction. Environ. Res. Eng. Manag. 2, 59–71.

- Nouri, M., Haddioui, A., 2016a. Assessment of metals contamination and ecological risk in ait ammar abandoned iron mine soil , Morocco. *Ekológia (Bratislava)* 35, 32–49. <https://doi.org/10.1515/eko-2016-0003>
- Nouri, M., Haddioui, A., 2016b. Les techniques de dépollution des sols contaminés par les métaux lourds : une revue ( The remediation techniques of heavy metals contaminated soils : a review ). *Maghrebien J. Pure Appl. Sci.* 2, 47–58.
- Nouri, M., Haddioui, A., 2016c. Human and animal health risk assessment of metal contamination in soil and plants from Ait Ammar abandoned iron mine, Morocco. *Environ. Monit. Assess.* 188, 6. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-5012-6>
- Obiora, S.C., Chukwu, A., Davies, T.C., 2016. Heavy metals and health risk assessment of arable soils and food crops around Pb e Zn mining localities in Enyigba , southeastern Nigeria. *J. African Earth Sci.* 116, 182–189. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2015.12.025>
- Ochonogor, R.O., Harrison, I.A., 2014. Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soil by *Psoralea Pinnata*. *Int. J. Environ. Sci. Dev.* 5, 449–443. <https://doi.org/10.7763/IJESD.2014.V5.524>
- Ögren, E., Evans, J.R., 1992. Photoinhibition of Photosynthesis in situ in Six Species of *Eucalyptus*. *Aust. J. Plant Physiol* 19, 223–232. <https://doi.org/10.1071/PP9920223>
- Okoro, H.K., Fatoki, O.S., Adekola, F.A., Ximba, B.J., Snyman, R.G., 2012. The Role of Inflammatory Mediator Bradykinin in Cardiovascular and Renal Diseases. *Open Access Sci. Reports* 1, 1–7. <https://doi.org/10.4172/scientificreports.181>
- Olafisoye, O.B., Adefioye, T., Osibote, O.A., 2013. Heavy Metals Contamination of Water , Soil , and Plants around an Electronic Waste Dumpsite. *J. Environ. Stud.* 22, 1431–1439.
- Olowoyo, J.O., Heerden, E. Van, Fischer, J., 2013. Trace metals concentrations in soil from different sites in Pretoria , South Africa. *Sustain. Environ. Res.* 23, 93–99.
- Pajević, S., Borišev, M., Nikolić, N., Arsenov, D.D., Orlović, S., Župunski, M., 2016. Phytoextraction of Heavy Metals by Fast- Growing Trees: A Review, in: Ansari, et al. (Ed.), *Phytoremediation*. Springer International Publishing Switzerland, pp. 29–65. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-40148-5>
- Pan, H., Zhou, G., Cheng, Z., Yang, R., He, L., Zeng, D., Sun, B., 2014. Advances in geochemical survey of mine tailings project in China. *J. Geochemical Explor.* 139, 193–200. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2013.07.012>
- Pardo, T., Clemente, R., Alvarenga, P., Bernal, M.P., 2014. Efficiency of soil organic and inorganic amendments on the remediation of a contaminated mine soil : II . Biological and ecotoxicological evaluation. *Chemosphere* 107, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.017>
- Park, J.H., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N., Chung, J.W., 2011. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal(loid) contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* 185, 549–574. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.09.082>
- Parlak, K.U., 2016. Effect of nickel on growth and biochemical characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *NJAS - Wageningen J. Life Sci.* 76, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.njas.>

[2012.07.001](#)

- Parmar, S., Singh, V., 2015. Phytoremediation Approaches for Heavy Metal Pollution : A Review. J. Plant Sci. Res. 2, 1–8.
- Patra, J., Panda, B.B., 1998. A comparison of biochemical responses to oxidative and metal stress in seedlings of barley , *Hordeum vulgare* L . Environ. Pollut. 101, 99–105. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)00009-8](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(98)00009-8)
- Pätsikkä, E., Kairavuo, M., Sersen, F., Aro, E.-M., Tyystjärvi, E., 2002. Excess copper predisposes photosystem II to photoinhibition in vivo by outcompeting iron and causing decrease in leaf chlorophyll. Plant Physiol. 129, 1359–1367. <https://doi.org/10.1104/pp.004788>
- Peralta-Videa, J.R., Lopez, M.L., Narayan, M., Saupe, G., Gardea-Torresdey, J., 2009. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. Int. J. Biochem. Cell Biol. 41, 1665–1677. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.03.005>
- Peralta, J.R., Gardea-Torresdey, J.L., Tiemann, K.J., Gomez, E., Arteaga, S., Rascon, E., Parsons, J.G., 2001. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 66, 727–734. <https://doi.org/10.1007/s001280069>
- Perez, J., 2012. The soil remediation industry in Europe : the recent past and future perspectives. pp: 2-22.
- Pinheiro, J.C., Marques, C.R., Pinto, G., Bouguerra, S., Mendo, S., Gomes, N.C., Gonçalves, F., Rocha-Santos, T., Duarte, A.C., Roembke, J., Sousa, J.P., Ksibi, M., Haddioui, A., Pereira, R., 2013. The performance of *Fraxinus angustifolia* as a helper for metal phytoremediation programs and its relation to the endophytic bacterial communities. Geoderma 202–203, 171–182. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.03.014>
- Prasad, K.V.S.K., Saradhi, P.P., Sharmila, P., 1999. Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. Environmental and Experimental Botany. 42, 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(99\)00013-1](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(99)00013-1)
- Prasad, M.N.V., Freitas, H.M. de O., 2003. Metal hyperaccumulation in plants- Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electron. J. Biotechnol. 6, 285–321. <https://doi.org/10.2225/vol6-issue3-fulltext-6>
- Puga, A.P., Abreu, C.A., Melo, L.C.A., Beesley, L., 2015. Biochar application to a contaminated soil reduces the availability and plant uptake of zinc, lead and cadmium. J. Environ. Manage. 159, 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.05.036>
- Purakayastha, T.J., Chhonkar, P.K., 2010. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils, in: Sherameti, I., Varma, A. (Eds.), Soil Heavy Metals. Springer, Berlin/Heidelberg, pp. 389–429. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02436-8>
- Putwattana, N., Kruatrachue, M., Kumsopa, A., Pokethitiyook, P., 2015. Evaluation of Organic and Inorganic Amendments on Maize Growth and Uptake of Cd and Zn from Contaminated Paddy Soils. Int. J. Phytoremediation 17, 165–174. <https://doi.org/10.1080/15226514.2013.876962>
- Raskin, I., Ensley, B.D. (Burt D., 1999. Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean the

- Environment. J. Plant Biotechnol. 1, 304. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(97\)80106-1](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(97)80106-1)
- Rehman, M., Rizwan, M., Ali, S., Sik, Y., Ishaque, W., Farrakh, M., Akmal, F., Waqar, M., 2017. Remediation of heavy metal contaminated soils by using *Solanum nigrum*: A review. Ecotoxicol. Environ. Saf. 143, 236–248. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.038>
- Rehman, M.Z.U., Rizwan, M., Ali, S., Fatima, N., Yousaf, B., Naeem, A., Sabir, M., Ahmad, H.R., Ok, Y.S., 2016. Contrasting effects of biochar, compost and farm manure on alleviation of nickel toxicity in maize (*Zea mays* L.) in relation to plant growth, photosynthesis and metal uptake. Ecotoxicol. Environ. Saf. 133, 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.07.023>
- Reichman, S.M., 2002. The Responses of Plants to Metal Toxicity: A review focusing on Copper, Manganese and Zinc. Australian Minerals & Energy Environment Foundation.
- Ritesh, B., Goswami, P., Pathak, K., Mukherjee, A., 2016. Vetiver grass: An environment clean-up tool for heavy metal contaminated iron ore mine-soil. Ecol. Eng. 90, 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.027>
- Rizwan, M., Ali, S., Abbas, T., Zia-ur-rehman, M., Hannan, F., Keller, C., Al-wabel, M.I., Sik, Y., 2016a. Cadmium minimization in wheat: A critical review. Ecotoxicol. Environ. Saf. 130, 43–53. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.04.001>
- Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Ibrahim, M., Tsang, D.C.W., Zia-ur-rehman, M., Ahmad, Z., Tack, F.M.G., Ok, Y.S., 2017. A critical review on effects, tolerance mechanisms and management of cadmium in vegetables. Chemosphere 182, 90–105. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.013>
- Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M.F., Ibrahim, M., Zia-ur-rehman, M., Abbas, T., Ok, Y.S., 2015. Mechanisms of biochar-mediated alleviation of toxicity of trace elements in plants: a critical review. Env. Sci Pollut Res 23, 2230–2248. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5697-7>
- Rizwan, M., Ali, S., Rizvi, H., Rinklebe, J., Tsang, D.C.W., Meers, E., Ok, Y.S., Ishaque, W., 2016b. Phytomanagement of heavy metals in contaminated soils using sunflower: A review. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 46, 1498–1528. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1248199>
- Roger, M.J., 2003. Handbook of Plant Ecophysiology Techniques., Kluwer Academic Publishers. New York. <https://doi.org/10.1007/0-306-48057-3>
- Romero-Freire, A., Aragón, M.S., Garzón, F.J.M., Peinado, F.J.M., 2016. Geoderma Is soil basal respiration a good indicator of soil pollution? Geoderma 263, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.09.006>
- Romic, M., 2012. Bioavailability of Trace Metals in Terrestrial Environment: Methodological Issues. Eur. Chem. Bull. 1, 489–494. <https://doi.org/10.17628/ECB.2012.1.489>
- Roy, M., McDonald, L.M., 2013. Metal uptake in plants and health risk assessments in metal-contaminated smelter soils. L. Degrad. Dev. 26, 785–792. <https://doi.org/10.1002/ldr.2237>
- Rucińska-Sobkowiak, R., 2016. Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. Acta Physiol. Plant. 38. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2277-5>
- Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I., 1998. Phytoremediation. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.



- 49, 643–668. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.643>
- San Miguel, A., 2011. Phytoremediation des organochlorés . Etude mécanistique et fonctionnelle des capacités épuratrices du système plante-rhizosphère. Université de Grenoble. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00680031>
- Sandalio, L.M., Dalurzo, H.C., Gomez, M., Romero-Puetas, M.C., del Rio, L.A., 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *J. Exp. Bot.* 52, 2115–2126.
- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M.R., Ishaque, W., Kamran, M.A., Matloob, A., Rehim, A., Hussain, S., 2017. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere* 171, 710–721. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.116>
- Sarwat, I., Khan, F., Iqbal, M.Z., 2013. Phytoremediation: Assessing tolerance of tree species against heavy metal (Pb and Cd) toxicity. *Pakistan J. Bot.* 45, 2181–2186.
- Schützendübel, A., Polle, A., 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J. Exp. Bot.* 53, 1351–1365. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(02\)01411-0](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01411-0)
- Seregin, I. V., Kozhevnikova, A.D., 2005. Distribution of cadmium, lead, nickel, and strontium in imbibing maize caryopses. *Russ. J. Plant Physiol.* 52, 565–569. <https://doi.org/10.1007/s11183-005-0084-8>
- Sessitsch, A., Kuffner, M., Kidd, P., Vangronsveld, J., Wenzel, W.W., Fallmann, K., Puschenreiter, M., 2013. The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.* 60, 182–194. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.01.012>
- Shah, F.R., Ahmad, N., Zahid, K.R.M.D.M., Zubair, M., 2011. Response of *Eucalyptus camaldulensis* to exogenous application of cadmium and chromium. *Pak. J. Bot.* 43, 181–189.
- Sharma, S., Sharma, P., Datta, S.P., Gupta, V., 2010. Morphological and Biochemical Response of *Cicer arietinum* Var . -Pusa-256 Towards an Excess Zinc Concentration. *Life Sci. J.* 7, 95–98. <https://doi.org/10.7537/marslsj070110.17>.
- Sharma, S.S., Kaul, S., Metwally, A., Goyal, K.C., Finkemeier, I., Dietz, K.J., 2004. Cadmium toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) as affected by varying Fe nutritional status. *Plant Sci.* 166, 1287–1295. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.01.006>
- Shen, X., Huang, D.Y., Ren, X.F., Zhu, H.H., Wang, S., Xu, C., He, Y.B., Luo, Z.C., Zhu, Q.H., 2016. Phytoavailability of Cd and Pb in crop straw biochar-amended soil is related to the heavy metal content of both biochar and soil. *J. Environ. Manage.* 168, 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.019>
- Sheoran, V., Sheoran, A.S., Poonia, P., 2013. Phytomining of gold : A review. *J. Geochemical Explor.* 128, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2013.01.008>
- Sherameti, I., Varma, A., 2015. Heavy Metal Contamination of Soils Monitoring and Remediation. Published by Springer (2015). 497 pages. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14526-6>

- Shrivastava, P., Kumar, R., 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J. Biol. Sci.* 22, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>
- Silveira, V.C., Oliveira, A.P. De, Sperotto, R.A., Espindola, L.S., Dias, J.F., Cunha, J.B., Fett, J.P., 2007. Influence of iron on mineral status of two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Braz. J. Plant Physiol.* 108, 127–139. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202007000200005>
- Sims, D.A., Gamon, J.A., 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sens. Environ.* 81, 337–354.
- Singh, J., Kalamdhad, A.S., 2013. Chemical Speciation of Heavy Metals in Compost and Compost Ammended Soil—A Review. *Int. J. Environ. Eng. Res.* 2, 27–37.
- Singh, S., Parihar, P., Singh, R., SINGH, V.P., Prasad, S.M., 2015. Heavy metal tolerance in plants: Role of transcriptomics, proteomics, metabolomics and ionomics. *Front. Plant Sci.* 6, 1–36. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01143>
- Singh, V.P., 2005. Metal toxicity in plants systems, in: *Metal Toxicity and Tolerance in Plants and Animals*. Sarup & Sons, p. 7625.
- Sinha, S., Gupta, M., Chandra, P., 1997. Oxidative stress induced by iron in *Hydrilla verticillata* (l.f.) Royle: response of antioxidants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 38, 286–291. <https://doi.org/10.1006/eesa.1997.1598>
- Smith, K.S., Huyck, H.L., 1999. An Overview of the Abundance, Relative Mobility, Bioavailability, and Human Toxicity of Metals, in: Plumlee, G.S., Logsdon, M.J. (Eds.), *The Environmental Chemistry of Mineral Deposits, Reviews in Economic Geology*. pp. 29–70.
- Solanki, R., Dhankhar, R., 2011. Biochemical changes and adaptive strategies of plants under heavy metal stress. *Biologia (Bratisl)*. 66, 195–204. <https://doi.org/10.2478/s11756-011-0005-6>
- Soudek, P., Petrová, Š., Vaňková, R., Song, J., Vaněk, T., 2014. Accumulation of heavy metals using *Sorghum sp.* *Chemosphere* 104, 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.079>
- Spokas, K.A., Baker, J.M., Reicosky, D.C., 2010. Ethylene: potential key for biochar amendment impacts. *Plant Sci.* 333, 443–452. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0359-5>
- Stefanowicz, A.M., Woch, M.W., Kapusta, P., 2016. The accumulation of elements in plants growing spontaneously on small heaps left by the historical Zn-Pb ore mining. *Env. Sci Pollut Res* 23, 6524–6534. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5859-7>
- Su, C., Jiang, L., Zhang, W., 2014. A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques. *Environ. Scept. Critics* 3, 24–38. <https://doi.org/10.1037/a0036071>
- Subhashini, V., Swamy, A.V.V.S., 2013. Phytoremediation of Pb and Ni Contaminated Soils Using *Catharanthus roseus* (L.). *Univers. J. Environ. Res. Technol.* 3, 465–472.
- Talebi, S., Kalat, S.M.N., Darban, A.L.S., 2014. The Study Effects of Heavy Metals on Germination Characteristics and Proline Content of Triticale (*Triticoseale Wittmack*). *Int. J. Farming Allied*

Sci. 3, 1080–1087.

- Tam, N.F.Y., Tiquia, S., 1994. Assessing toxicity of spent pig litter using a seed germination technique. *Resources, Conservation and Recyclin.* 11, 261–274. [https://doi.org/10.1016/0921-3449\(94\)90094-9](https://doi.org/10.1016/0921-3449(94)90094-9)
- Tan, Z., Lin, C.S.K., Ji, X., Rainey, T.J., 2017. Returning biochar to fields: A review. *Appl. Soil Ecol.* 116, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.03.017>
- Tang, J., Li, X., Luo, Y., Li, G., Khan, S., 2016. Spectroscopic characterization of dissolved organic matter derived from different biochars and their polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) binding affinity. *Chemosphere* 152, 399–406. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.016>
- Tanveer, A., Rehman, A., Javaid, M.M., Abbas, R.N., 2010. Allelopathic potential of *Euphorbia helioscopia* L. against wheat (*Triticum aestivum* L.), chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medic.). *Turk J Agric* 34, 75–81. <https://doi.org/10.3906/tar-0903-53>
- Tauqeer, H.M., Ali, S., Rizwan, M., Ali, Q., Saeed, R., Iftikhar, U., Ahmad, R., Farid, M., Abbasi, G.H., 2016. Phytoremediation of heavy metals by *Alternanthera bettzickiana*: Growth and physiological response. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 126, 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.031>
- Tejada, M., Moreno, J.L., Hernandez, M.T., Garci, C., 2008. Soil amendments with organic wastes reduce the toxicity of nickel to soil enzyme activities. *Eur. J. Soil Biol.* 44, 129–140. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.10.007>
- Tian, D., Liu, A., Xiang, Y., 2017. Effects of Biochar on Plant Growth and Cadmium Uptake : Case Studies on Asian Lotus (*Nelumbo nucifera* ) and Chinese Sage (*Salvia miltiorrhiza*), in: Huang, W.-J. (Ed.), *Engineering Applications of Biochar* Downloaded. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68251>
- Toler, H.D., Morton, J.B., Cumming, J.R., 2005. Growth and metal accumulation of mycorrhizal sorghum exposed to elevated copper and zinc. *Water. Air. Soil Pollut.* 164, 155–172. <https://doi.org/10.1007/s11270-005-2718-z>
- Ullah, A., Heng, S., Munis, M.F.H., Fahad, S., Yang, X., 2015. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: A review. *Environ. Exp. Bot.* 117, 28–40. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.001>
- Vassilev, A., Nikolova, A., Koleva, L., Lidon, F., 2011. Effects of Excess Zn on Growth and Photosynthetic Performance of Young Bean Plants. *J. Phytol.* 3, 58–62.
- Vinit-dunand, F., Epron, D., Alaoui-sosse, B., Badot, P., 2002. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Sci.* 163, 53–58.
- Violante, A., Cozzolino, V., Perelomov, L., Caporale, A.G., Pigna, M., 2010. Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. *J. Soil. Sci. Plant Nutr.* 10, 268–292. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000100005>
- Walden, T., 2005. Risk assessment in soil pollution: Comparison study. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 4, 87–113. <https://doi.org/10.1007/s11157-005-2240-1>

- Wan, X., Lei, M., Chen, T., 2016. Cost-benefit calculation of phytoremediation technology for heavy-metal-contaminated soil. *Sci. Total Environ.* 563–564, 796–802. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.080>
- Wang, M., Zou, J., Duan, X., Jiang, W., Liu, D., 2007. Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zea mays* L.). *Bioresour. Technol.* 98, 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.11.028>
- Wang, Q.-R., Cui, Y.-S., Liu, X.-M., Dong, Y.-T., Christie, P., 2003. Soil contamination and plant uptake of heavy metals at polluted sites in China. *J. Environ. Sci. Health. A. Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* 38, 823–838. <https://doi.org/10.1081/ESE-120018594>
- Wang, X., Sun, C., Gao, S., Wang, L., Shuokui, H., 2001. Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus*. *Chemosphere* 44, 1711–1721. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00520-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00520-8)
- Weatherly, P.E., 1950. Studies in the water relations of the cotton plant. - I . The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytol.* <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1950.tb05146.x>
- Weiqliang, L., Khan, M.A., Yamaguchi, S., Kamiya, Y., 2005. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regul.* 46, 45–50. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-6324-2>
- Wintz, H., Fox, T., Vulpe, C., 2002. Functional Genomics and Gene Regulation in Biometals Research. *Biochem. Soc. Trans.* 30, 766–768.
- Wiszniewska, A., Hanus-Fajerska, E., Muszyńska, E., Ciarkowska, K., 2016. Natural Organic Amendments for Improved Phytoremediation of Polluted Soils: A Review of Recent Progress. *Pedosphere* 26, 1–12. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60017-0](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60017-0)
- Wu, C., Tuo, J., Zhang, M., Sun, L., Qian, Y., Liu, Y., 2016. Sedimentary and residual gas geochemical characteristics of the Lower Cambrian organic-rich shales in Southeastern Chongqing , China. *Mar. Pet. Geol.* 75, 140–150. <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2016.04.013>.
- Wu, Q., Wang, S., Thangavel, P., Li, Q., Zheng, H., Bai, J., Qiu, R., 2011. Phytostabilization potential of *Jatropha curcas* L. in polymetallic acid mine tailings. *Int. J. Phytoremediation* 13, 788–804. <https://doi.org/10.1080/15226514.2010.525562>
- Wu, Q.X., Hendershot, W.H., Marshall, W.D., Ge, Y., 2000. Speciation of cadmium, copper, lead, and zinc in contaminated soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31, 1129–1144. <https://doi.org/10.1080/00103620009370502>
- Wuana, R.A., Okieimen, F.E., 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *Int. Sch. Res. Netw. Ecol.* 2011, 1–20. <https://doi.org/10.5402/2011/402647>
- Xiao, R., Wang, S., Li, R., Wang, J.J., Zhang, Z., 2017. Soil heavy metal contamination and health risks associated with artisanal gold mining in Tongguan, Shaanxi, China. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 141, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.002>
- Xu, P., Sun, C.X., Ye, X.Z., Xiao, W.D., Zhang, Q., Wang, Q., 2016. The effect of biochar and crop

- straws on heavy metal bioavailability and plant accumulation in a Cd and Pb polluted soil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 132, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.05.031>
- Yabe, J., Ishizuka, M., Umemura, T., 2010. Current levels of heavy metal pollution in Africa. *J. Vet. Med. Sci.* 72, 1257–1263. <https://doi.org/10.1292/jvms.10-0058>
- Yadav, S.K., 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African J. Bot.* 76, 167–179. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.10.007>
- Yang, X., Liu, J., McGroutner, K., Huang, H., Lu, K., Guo, X., He, L., Lin, X., Che, L., Ye, Z., Wang, H., 2016. Effect of biochar on the extractability of heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and enzyme activity in soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 974–984. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4233-0>
- Yang, Y., Wei, X., Lu, J., You, J., Wang, W., Shi, R., 2010. Lead-induced phytotoxicity mechanism involved in seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73, 1982–1987. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.08.041>
- Yildirim, D., Sasmaz, A., 2016. Phytoremediation of As, Ag, and Pb in contaminated soils using terrestrial plants grown on Gumuskoy mining area (Kutahya Turkey). *J. Geochemical Explor.* <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.11.005>
- Yobouet, A.Y., Adouby, K., Trokourey, A., Yao, B., 2010. Cadmium, Copper, Lead and Zinc speciation in contaminated soils. *Int. J. Eng. Sci. Technol.* 2, 802–812.
- Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., Ma, L.Q., 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Sci. Total Environ.* 368, 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.016>
- Younis, U., Malik, S.A., Rizwan, M., Qayyum, M.F., Ok, Y.S., Shah, M.H.R., Rehman, R.A., Ahmad, N., 2016. Biochar enhances the cadmium tolerance in spinach (*Spinacia oleracea*) through modification of Cd uptake and physiological and biochemical attributes. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 21385–21394. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7344-3>
- Yourtchi, M.S., Bayat, H., 2013. Effect of cadmium toxicity on growth, cadmium accumulation and macronutrient content of durum wheat (Dena CV.). *Int. J. Agric. Crop Sci.* 6, 1099–1103.
- Yuan, J.H., Xu, R.K., Zhang, H., 2011. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures. *Bioresour. Technol.* 102, 3488–3497. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.018>
- Yusuf, M., Fariduddin, Q., Hayat, S., Ahmad, A., 2011. Nickel: An overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 86, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0171-1>
- Zayed, A., Gowthman, S., Terry, N., 1998. Phytoaccumulation of Trace Elements by Wetland Plants: I. Duckweed. *J. Environ. Qual.* 27, 715–721. <https://doi.org/10.2134/jeq1998.00472425002700030032x>
- Zhang, F., Wang, Y., Lou, Z., 2007. Effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings (*Kandelia candel* and

*Bruguiera gymnorrhiza*). Chemosphere 67, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.007>

Zhang, H., 1998. Animal Manure Can Raise Soil pH. Prod. Technol. 10, 1–2.

Zhang, R.H., Li, Z.G., Liu, X.D., Wang, B. cai, Zhou, G.L., Huang, X.X., Lin, C.F., Wang, A. hua, Brooks, M., 2017. Immobilization and bioavailability of heavy metals in greenhouse soils amended with rice straw-derived biochar. Ecol. Eng. 98, 183–188. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.10.057>

Zhang, X., Wang, H., He, L., 2013. Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1659-0>

Zitka, O., Krystofova, O., Hynek, D., Sobrova, P., Kaiser, J., Sochor, J., Zehnalek, J., Babula, P., Ferrol, N., Kizek, R., Adam, V., 2013. Heavy Metal Stress in Plants. Heavy Met. Stress Plants 19–41. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-38469-1>