

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des sciences de l'ingénieur
Département de chimie industrielle

MEMOIRE DE MAGISTER

Option : Génie de l'environnement

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE MISE AU POINT DE LA
PHYTOREMEDIATION : APPLICATION A L'ELIMINATION D'UN
PESTICIDE PAR LA PLANTE AQUATIQUE *LEMNA GIBBA*

Par

Amel DJORI

Devant le jury composé de :

A. AOUABED	Professeur, USDB	Président
N. BOUCHENAFI	Maître de conférences A, USDB	Examinatrice
H. BOUTOUMI	Maître de conférences A, USDB	Examineur
Z. BEN MAMAÂR	Maître de conférences A, USDB	Examineur
S. SEMSARI	Professeur, USDB	Rapporteur

Blida, Janvier 2012

Résumé

Les écosystèmes aquatiques sont dotés d'une grande diversité biologique, dont les macrophytes (les lemnacées) font une grande partie. Ces végétaux aquatiques sont exploités dans la décontamination des solutions aqueuses chargées en matière organique (pesticides). La mise au point de méthodes d'utilisation d'une plante aquatique *Lemna gibba* pour l'élimination de l'insecticide **Fenitrothion**, utilisé dans l'agriculture en Algérie et notamment dans la région centre. Une première étape vers l'examen de la toxicité de ce pesticide par rapport à la croissance de cette macrophyte qui est connue pour ses réponses aux toxiques présents en écosystèmes aquatiques. Les taux de croissance maximale de la plante pour les différentes concentrations 5, 10, 15, 20 et 25 mg.L⁻¹ de pesticide sont respectivement : 87,5; 92,5; 87,5; 80 et 72,5% et sont atteints au bout du quatrième jour d'expérience, ce qui démontre une atteinte de la croissance par une toxicité modérée du fenitrothion, ce qui correspond bien à l'objectif de tester des produits présentant une toxicité relativement faible pour mettre au point les mécanismes de la phytoremédiation. Pour les déterminations quantitatives du fenitrothion résiduel, suite aux essais de phytoremédiation, la HPLC a été considérée. Il a été noté une élimination croissante avec une augmentation de la concentration initiale et avec un effet plus prononcé au quatrième jour et dont les taux d'élimination sont de : 30,4 ; 61,9 ; 71,33 ; 47,1 et 32,84% pour des concentrations égales à : 5 ; 10 ; 15 ; 20 et 25 mg.L⁻¹ de fenitrothion. L'étude de l'activité de la catalase, CAT, montre que celle-ci est accélérée par le xénobiotique fenitrothion présent dans le milieu en fonction du temps d'exposition et de la concentration du polluant exposé.

Cependant, on pense que *L. gibba* serait indiquée dans des applications en phytoremédiation. Ces performances montrent un potentiel fort et intéressant.

Mots-clés : épuration, phytoremédiation, plante aquatique, toxicité, pesticides, Fenitrothion, stress oxydatif.

Summary

The aquatic ecosystems are endowed with a big biological variety, macrophytes (lemnacees) of which makes a big part (party). These aquatic vegetables are exploited in the decontamination of the aqueous solutions loaded in organic matter (pesticides). The development (clarification) of methods of use of a water plant *Lemna gibba* for the elimination of the insecticide Fenitrothion, used in the agriculture in Algeria in particular in the Centre region. A first stage towards the examination of the toxicity of this pesticide with regard to the growth of this macrophyte which is known for its answers to present toxins in aquatic ecosystems. The rates of maximal growth of the plant for the various concentrations 5, 10, 15, 20 and 25 mg. L⁻¹ of pesticide are respectively: 87,5; 92,5; 87,5; 80 and 72,5 % and are reached(affected) at the end of the fourth day of experience, what demonstrates an infringement of the growth by a moderate toxicity of the fenitrothion, what corresponds well to the objective to test products presenting a relatively low toxicity to finalize the mechanisms of the phytoremediation. For the quantitative determinations of the residual fenitrothion, further to the tries (essays) of phytoremediation, the HPLC was considered. It was noted that an increasing elimination with an increase of the initial concentration and with an effect more pronounced in the fourth day and the rates of elimination of which are of: 30,4; 61,9; 71,33; 47,1 and 32,84 % for equal concentrations in: 5; 10; 15; 20 and 25 mg. L⁻¹ of fenitrothion. The study of the activity of the catalase, CAT, shows that this one is accelerated by the present xenobiotique fenitrothion in the environment according to the time of exhibition and the concentration of the displayed (exposed) pollutant.

However, we think that *gibba* L. squeezed indicated in applications phytoremediation. These performances show a strong and interesting potential.

Keywords: purge, phytoremediation, water plant, toxicity, pesticides, Fenitrothion, oxydative stress.

ملخص

تم تجهيز النظم الايكولوجية المائية مع ارتفاع التنوع البيولوجي بما في ذلك النباتات المائية (ليمناسي) ذات حيز واسع، هذه النباتات المائية تعمل على إزالة التلوث من المحاليل المائية المحملة بالمواد العضوية (المبيدات). ويستخدم في تطوير أساليب استخدام محطة ليمنا جيبا المائية للقضاء على مضاد الحشرات فينيتريتيون المستعمل في الزراعة في الجزائر، وخصوصا في المنطقة الوسطى.

والخطوة الأولى نحو دراسة المبيد بالنسبة لنمو هذا المكروبيت والذي يعرف برودده السامة في النظم البيئية المائية، المعدل الأقصى للنمو بتركيز مختلفة 5، 10، 15، 20، 25، 50، 80، 92,5، 87,5، 72,5% ويتم ذلك خلال اليوم الرابع من التجربة والذي يدل على تحقيق النمو من خلال سمية معتدلة من الفينيتريتيون الذي يتوافق مع الهدف لاختبار منتجات ذات سمية منخفضة نسبيا لتطوير الآليات النباتية وفيما يتعلق بتحديد الكمية المتبقية من الفينيتريتيون باستعمال الـ HPLC بعد اختبار علاج النبات و لوحظ تقلص متزايد في زيادة التركيز الأولي مع وجود تأثير أكثر وضوحا في اليوم الرابع، و ذات نسبة تقلص كالاتي: 30.4، 61.9، 71.33، 47.1، 32.84% والتي توافقت التراكيز التالية: 5، 10، 15، 20، 25، 50، 80، 92,5، 87,5، 72,5% من الفينيتريتيون. كما تبين أن الملوث (المبيد) فينيتريتيون كان سببا في تحفيز نشاط انزيم الكاتالاز، الموجود في الوسط خلال زمن التجربة و تركيز الملوث المعروض.

و عليه يعتقد أن ليمنا جيبا قد تكون كاقترح فعال في التطبيقات النباتية، هذه العروض تظهر إمكانات قوية و مثيرة للاهتمام.

الكلمات الرئيسية: العلاج، فيتروميديا، النباتات المائية، التسمم، المبيدات، فينيتريتيون، حافظ الأكسدة.

REMERCIEMENTS

Ces pages sont l'occasion pour moi de remercier chaleureusement toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de cette thèse.

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu de m'avoir facilité la tâche pour réaliser ce mémoire.

Je voudrais tout d'abord remercier ma directrice de thèse, le Professeur Mme **S. SEMSARI**, de la confiance qu'elle m'a témoignée en m'accordant la réalisation de ce projet de recherche. J'ai bénéficié d'un très bon encadrement et de précieux conseils qui m'ont permis de mener ce projet de recherche le mieux possible.

Je remercie chaleureusement :

Le Professeur Mr A. AOUABED, de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de ma thèse.

Madame N. BOUCHENAFI, Mr H. BOUTOUMI et Mr Z. BEN MAMAËR d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et d'évaluer ce travail de recherche.

Je remercie également mon directeur, le chef de département de l'institut de chimie industrielle Mr M. Houari pour son aide entre autres dans la paperasse administrative, sans oublier Mr Ouzane. Toutes les personnes du laboratoire, de ANRH de Blida particulièrement Mr TABET responsable du laboratoire d'analyses, ainsi que le centre de recherche CNRDPA de Bousmail, pour m'avoir accueilli et pour leur sympathie. Je remercie, mes frères, ma sœur, mes belles sœurs, sans oublier tout mes amis pour leur soutien.

Je remercie de tout mon cœur ma mère qui m'a toujours aidé et qui m'a permis d'en être là aujourd'hui, et au reste de ma famille.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLES DES MATIERES	
LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION.....	09
Chapitre 01	
LES PRODUITS PHYTOSANITAIRES ET LEURS IMPACTS ENVIRONNEMENTAUX	13
1.1. Introduction.....	13
1.2. Impact environnemental des produits phytosanitaires.....	13
1.3. Généralité sur les pesticides.....	14
1.4. Classification.....	15
1.5. Propriétés des pesticides	17
1.6. Dégradation des pesticides.....	18
1.7. Toxicité des pesticides	18
1.8. Dispersion et devenir des pesticides dans l'environnement.....	18
1.9. La bioconcentration et la bioaccumulation.....	19
1.10. Les pesticides organophosphorés.....	21
Chapitre 02	
LES LENTILLES D'EAU, PHYTOTOXICITE ET PHYTOREMEDIATION	30
2.1. Introduction.....	30
2.2. Dépollution des eaux.....	30
2.3. Les moyens de lutte contre cette pollution.....	30
2.4. Procédés biologiques.....	31
2.5. Phytoremédiation.....	31
2.6. Plantes aquatiques et phytoremédiation.....	33
2.7. Les différents types de remédiation.....	34
2.8. Le potentiel épuratoire des plantes aquatiques et évaluation de la capacité de l'absorption du phosphore, nitrates et nitrites.....	35
2.9. Les lentilles d'eau.....	37
2.10. Etude du stress oxydant.....	41
2.11. Toxicité et tolérance.....	43
2.12. Pesticides et réponse de défense.....	43

Chapitre 03
MATERIELS ET METHODES 45

3.1. Le matériel végétal et les conditions de croissance	45
3.2. Le produit phytosanitaire étudié.....	48
3.3. Paramètres de la phytotoxicité.....	48
3.4. Mesure de la capacité d'absorption du phosphore, nitrate et nitrites	50
3.5. Dosage colorimétriques.....	50
3.6. Paramètres d'évaluation analytiques	52
3.7. Dosage des activités enzymatiques.....	54

Chapitre 04
RESULTATS ET DISCUSSIONS 55

4.1. Effets sur la biomasse.....	55
4.2. Effet du fenitrothion sur la croissance de <i>L. gibba</i>	56
4.3. Identification des changements de la structure du végétal en présence du Fenitrothion.....	59
4.4. Evolution du pH du milieu.....	61
4.5. Capacité d'absorption du phosphore, des nitrates et des nitrites par la <i>L.gibba</i>	62
4.6. Evaluation des taux d'élimination du fenitrothion par la plante aquatique <i>lemna gibba</i>	68
4.7. Résultats du dosage de la catalase.....	72
Conclusion et Perspectives.....	75
Liste des symboles et des abréviations	
Références Bibliographiques	
Annexe.	

LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1. Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides.....	15
Figure 1.2. Répartition mondiale des produits phytosanitaires par catégorie de produits.....	16
Figure 1.3. Dispersion des pesticides dans l'environnement.....	19
Figure 1.4. Structure générale des organophosphorés.....	21
Figure 1.5. Structure chimique de l'Insecticide Fenitrothion.....	23
Figure 1.6. Proposition d'un Mécanisme de dégradation du Fenitrothion par photolyse (Eau –sédiment) système.....	26
Figure 2.1. Les diverses espèces de Lemnacée.....	37
Figure 2.2. La plante aquatique Lemna gibba.....	38
Figure 2.3. Les frondes de La plante aquatique Lemna gibba.....	38
Figure 2.4. Lentilles d'eau.....	39
Figure 2.5. Lemna gibba dans la rivière Béni-Salah (Blida).....	40
Figure 2.6. Lemnacées (Jardin d'essais, Alger).....	40
Figure 2.7. Schéma des dommages provoqués par les espèces réactives de l'oxygène sur les macromolécules.....	42
Figure 3.1. Site de prélèvement de la lentille d'eau.....	44
Figure 3.2. Conditions de cultures de Lemna gibba.....	47
Figure 4.1. Evolution de la biomasse dans le milieu de culture sans pesticide (sans fenitrothion). (Valeurs moyennes, n=3).....	56
Figure 4.2. Inhibition de la biomasse de la <i>Lemna</i> dans le temps à différentes concentrations en Fenitrothion (valeurs moyennes ; n=3).....	57
Figure 4.3. Le taux de croissance de Lemna gibba en fonction du temps à différentes concentrations en Fenitrothion (valeurs moyennes ; n=3).....	58
Figure 4.4. Spectre Infrarouge du broyat de <i>La lemna gibba</i> avant mise en contact avec la solution contaminée.....	61
Figure 4.5. Spectre Infrarouge du broyat de <i>La lemna gibba</i> après mise en contact avec la solution contaminée.....	61
Figure 4. 6. Evolution de la teneur en phosphore des milieux de cultures en présence de l'insecticide Fenitrothion (valeurs moyennes, n=3).....	65
Figure 4.7. Le taux de réduction du phosphore en fonction du temps à	

différentes concentrations en fenitrothion (valeurs moyennes ; n=3).....	66
Figure 4.8. Evolution de la teneur en nitrates des milieux de cultures en présence de l'insecticide fenitrothion (valeurs moyennes, n=3). (Quantités des nitrates assimilés en mg/l).....	67
Figure 4.9. Evolution de la teneur en nitrites des milieux de cultures en présence de l'insecticide fenitrothion (valeurs moyennes, n=3). (Quantités des nitrites assimilés en mg/l).....	68
Figure 4.10. Spectres d'absorption du fenitrothion.....	70
Figure 4.11. Evolution de la concentration en fenitrothion en fonction temps dans les milieux de cultures sans L. gibba par HPLC.....	71
Figure 4.12. Evolution de la concentration en fenitrothion en fonction temps dans les milieux de cultures en présence de L. gibba par HPLC.....	72
Figure 4.13. Taux d'élimination du fenitrothion résiduelle par HPLC en fonction du temps en présence de Lemna gibba.....	73
Figure 4.14. Activité spécifique de la catalase en fonction du temps.....	75

Tableau 1.1. Résultats de bioconcentration de quelques produits phytosanitaires.....	20
Tableau 1. 2. Toxicité de quelques pesticides.....	20
Tableau 1.3. Propriétés physico-chimiques du Fenitrothion.....	26

Tableau 4.1. Variation du pH du milieu de culture en absence de Lemna contaminé en fonction du temps à différentes concentrations en Fenitrothion.....	61
Tableau 4.2. Variation du pH du milieu de culture en présence de Lemna contaminé en fonction du temps à différentes concentrations en Fenitrothion.....	62
Tableau 4.3. Le taux de réduction des nitrates en fonction du temps à différentes concentrations en fenitrothion (valeurs moyennes ; n=3).....	67

APPENDICE 1.

Tableau 1: Composition de la solution de Hoagland.

Concentrations et volumes des réactifs chimiques utilisés dans la préparation du milieu de culture. [108]

Solution	Composition chimique	Concentration (g.L ⁻¹)	Volume prélevé pour un litre de milieu de culture (ml)
S1	Ca (No ₃) ₂ .4H ₂ O	11,80	100
S2	KNO ₃	10,11	5
S3	MgSO ₄ .4H ₂ O	12,33	4
S4	KH ₂ PO ₄	6,80	1
S5	MnSO ₄ .4H ₂ O H ₃ BO ₃ ZnSO ₄ CuSO ₄ .7H ₂ O	1,55 2,86 0,22 0,079	1
S6	(NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄ .4H ₂ O NH ₄ VO ₃ Co(NO ₃) ₂ .4H ₂ O NiSO ₄ .7H ₂ O Na ₂ WO ₄ .2H ₂ O	0,128 0,229 0,0478 0,0179	1

APPENDICE 2

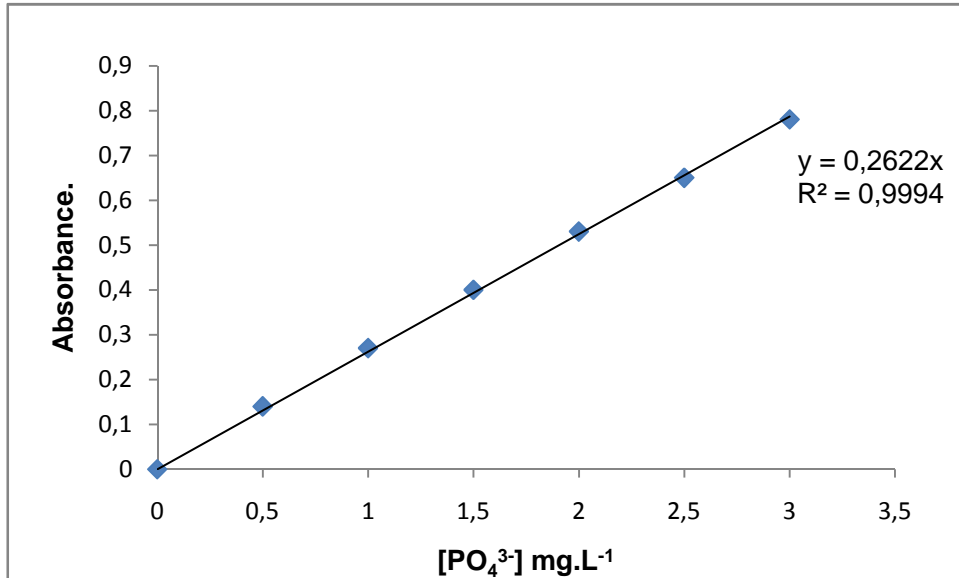


Figure 1 : Courbe d'étalonnage du phosphore.

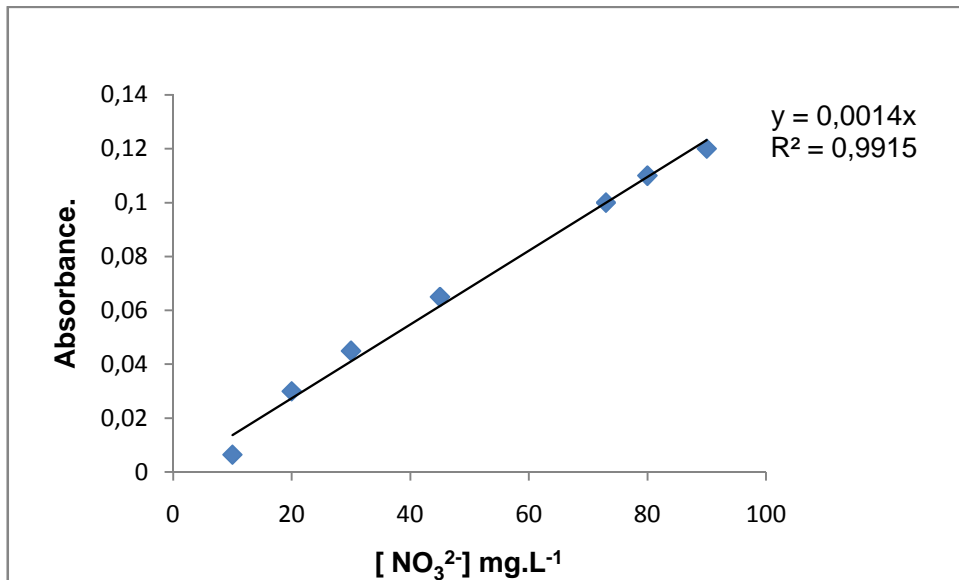


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des nitrates.

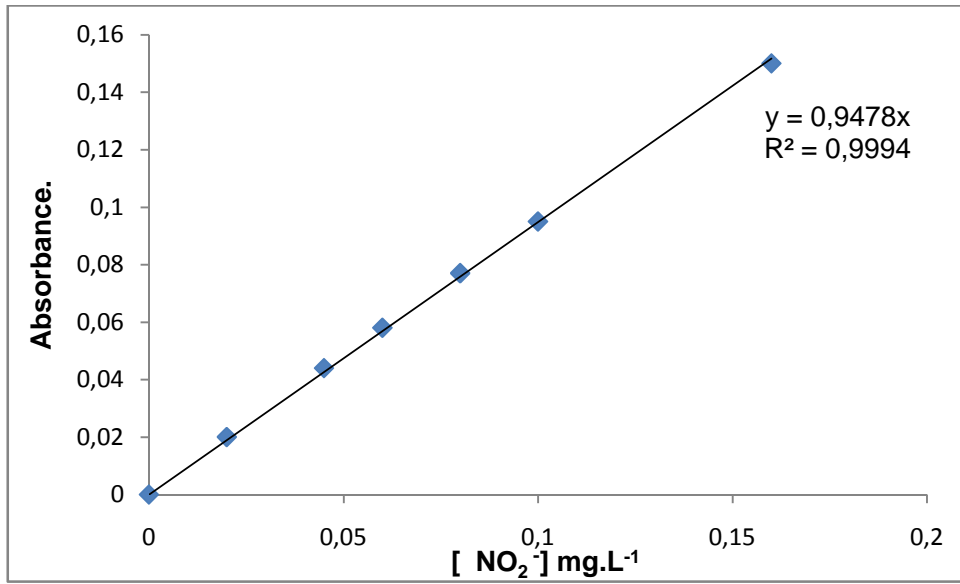


Figure 3 : Courbe d'étalonnage des nitrites.

APPENDICE 3

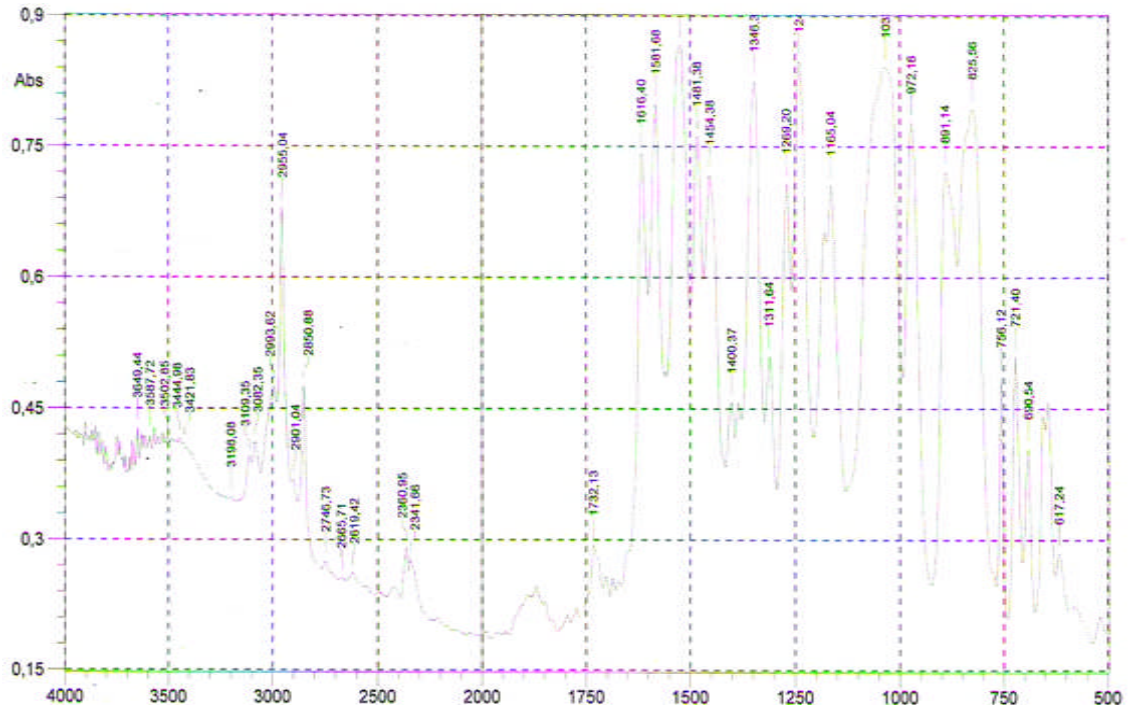


Figure 4 : Spectre infrarouge du fenitrothion pur.

APPENDICE 4

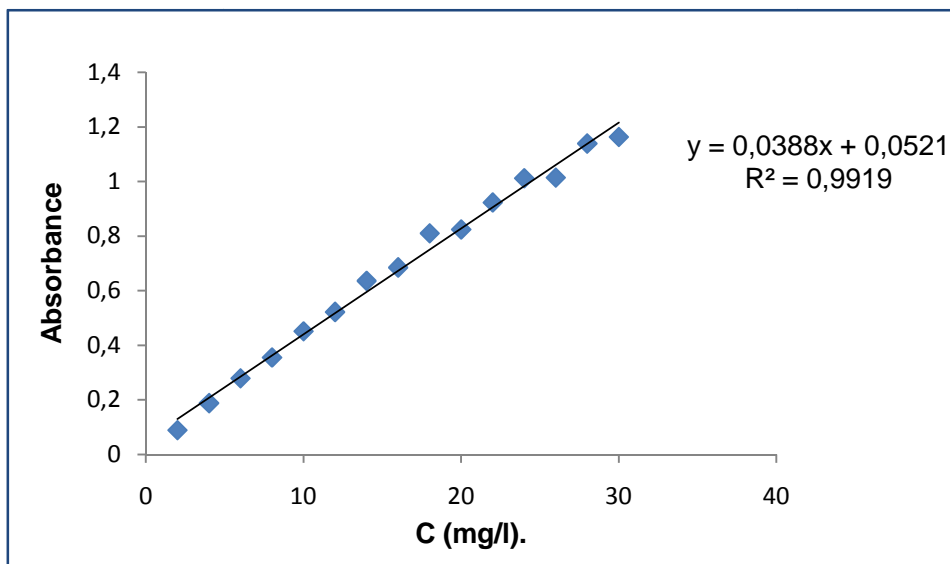


Figure 5 : La courbe d'étalonnage du fenitrothion obtenue par UV.

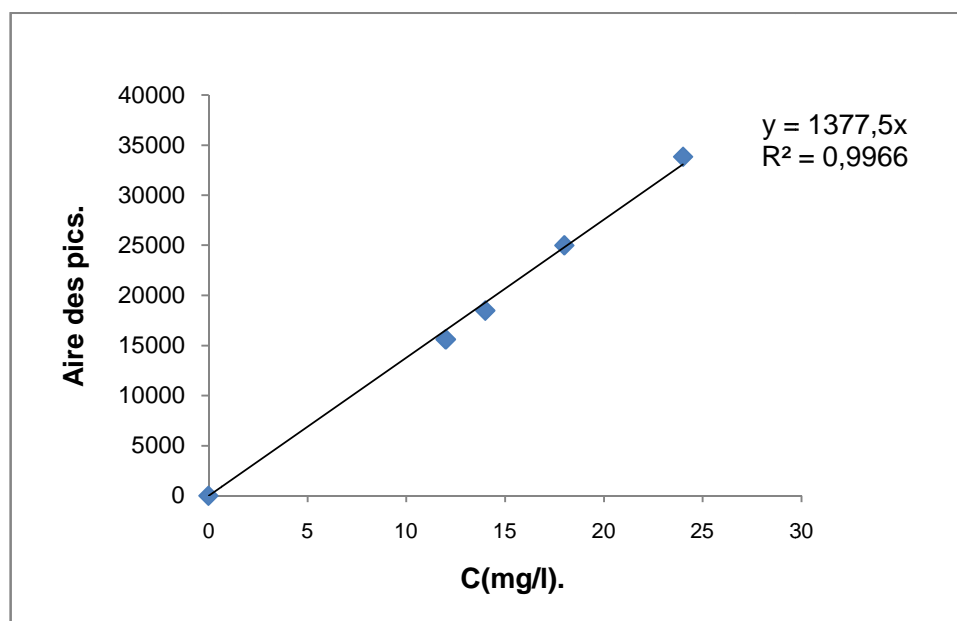
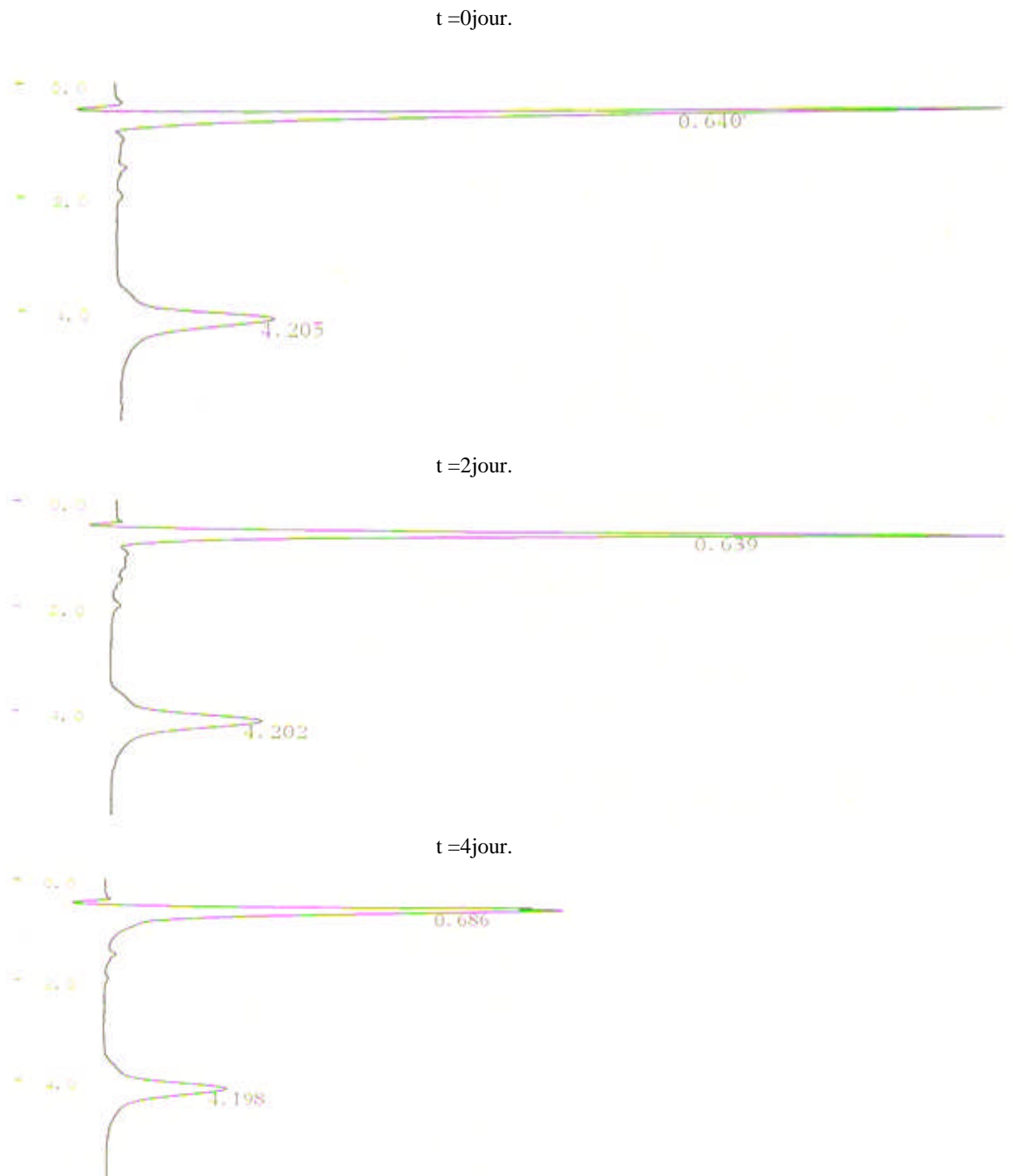


Figure 6 : La courbe d'étalonnage du fenitrothion obtenue par HPLC.

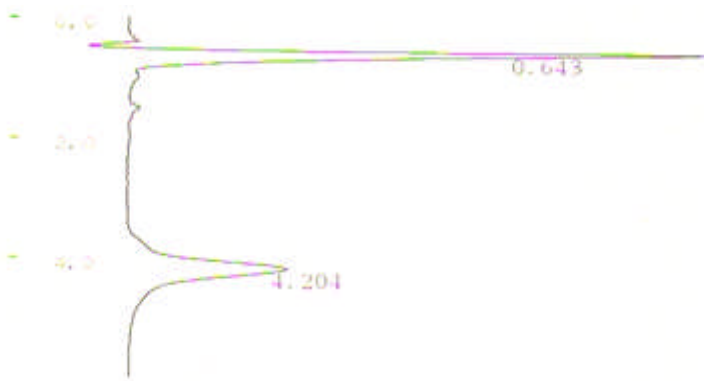
APPENDICE 5

Figure 7 : Variation de la concentration du Fenitrothion résiduelle dans le milieu analysé par HPLC :

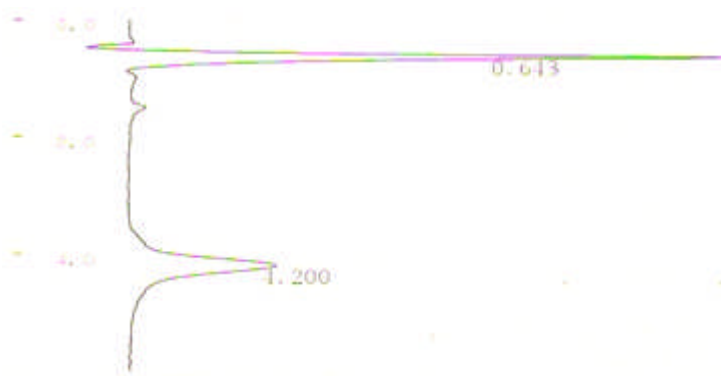
5 mg/l :



t=6jour.

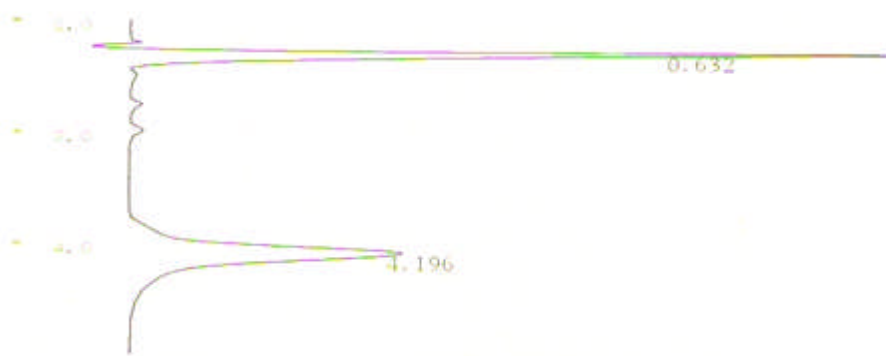


t =8jour.



10 mg/l :

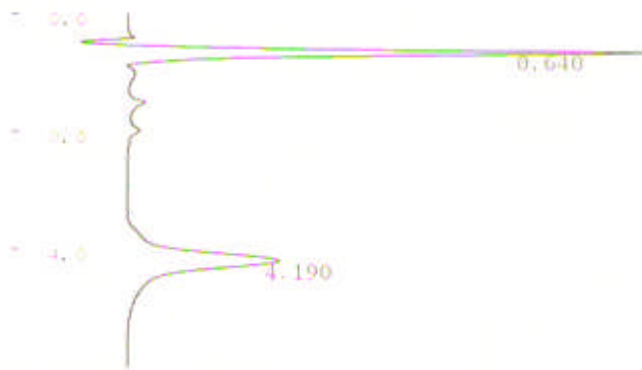
t =0jour.



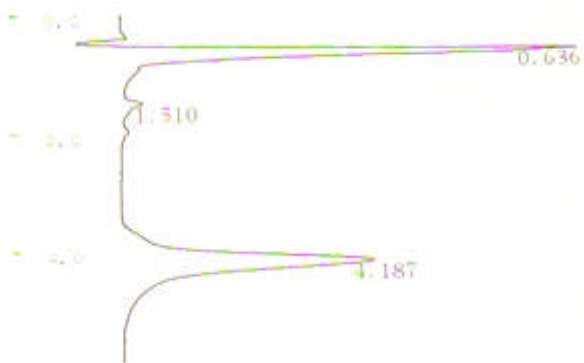
t =2jour.



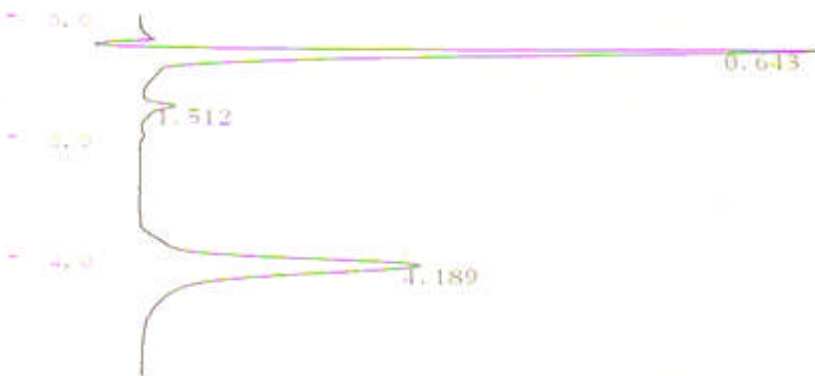
t = 4jour.



t = 6jour.

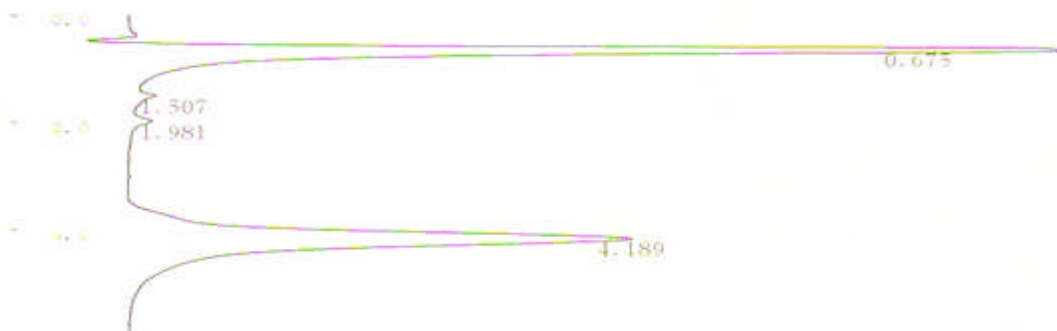


t = 8jour.

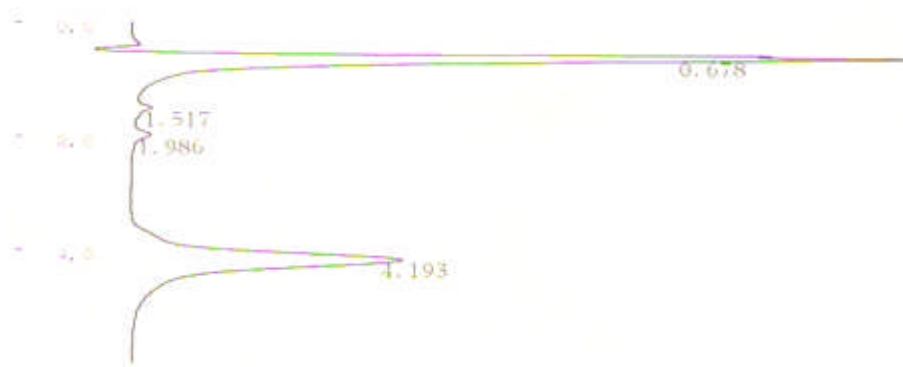


15 mg/l :

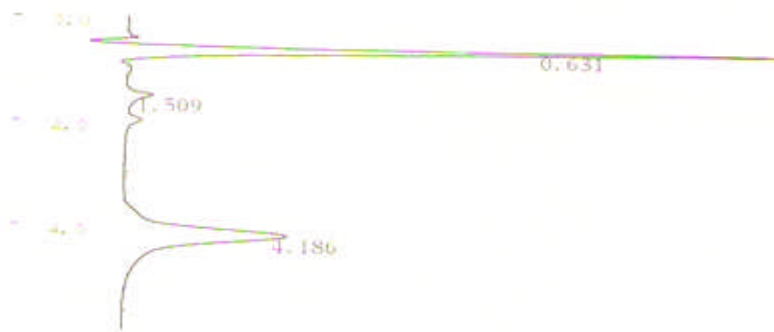
t = 0jour.



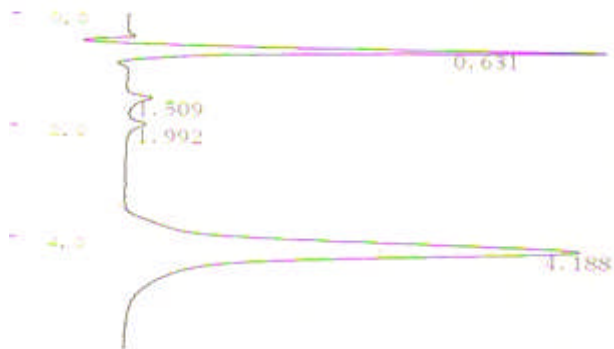
t = 2jour.



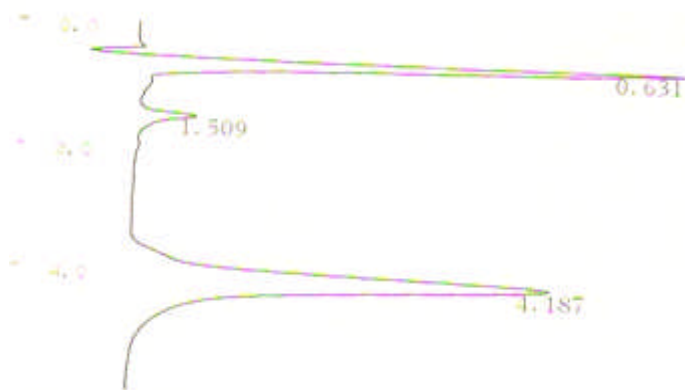
t = 4jour.



t = 6jour.

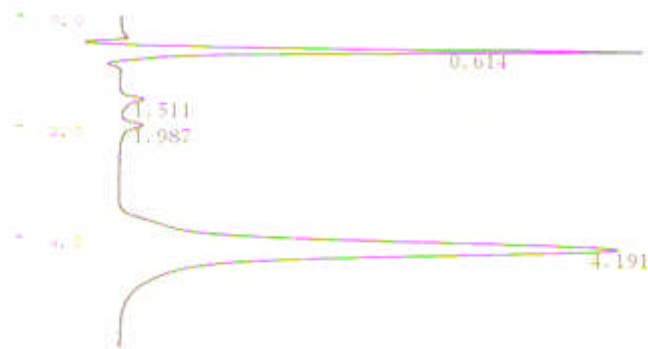


t = 8jour.

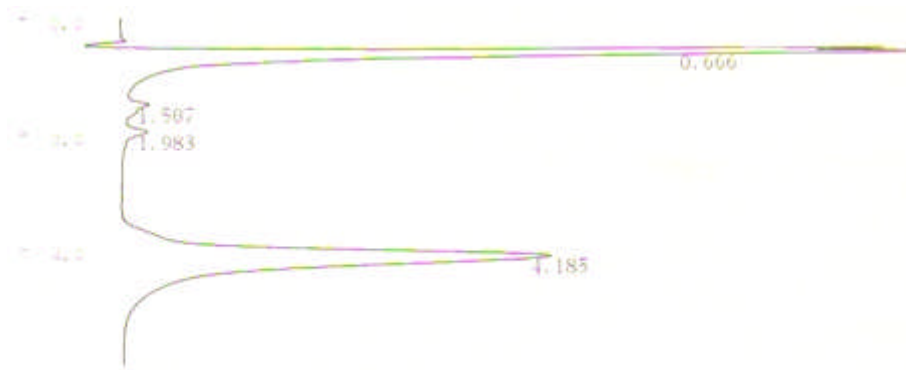


20 mg/l :

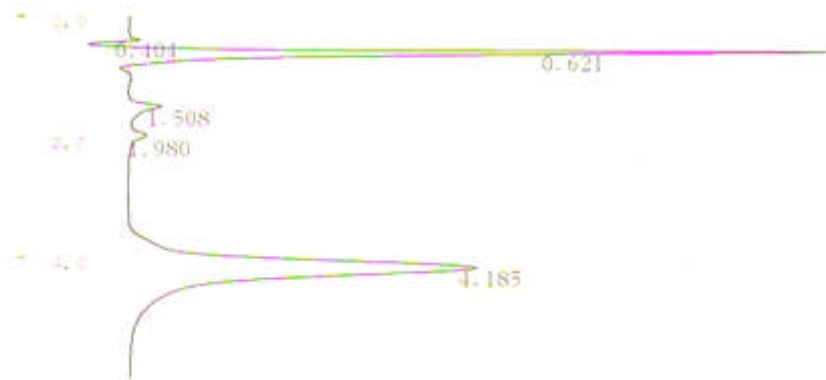
t = 0jour.



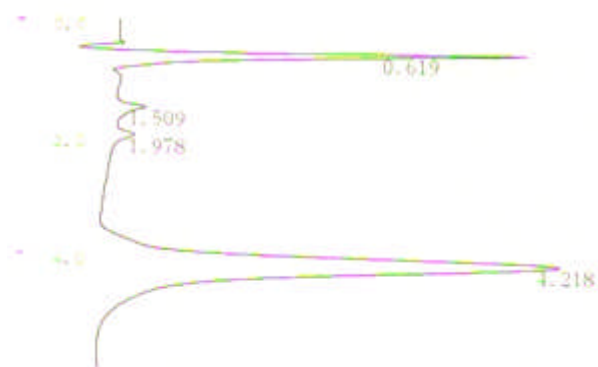
t = 2jour.



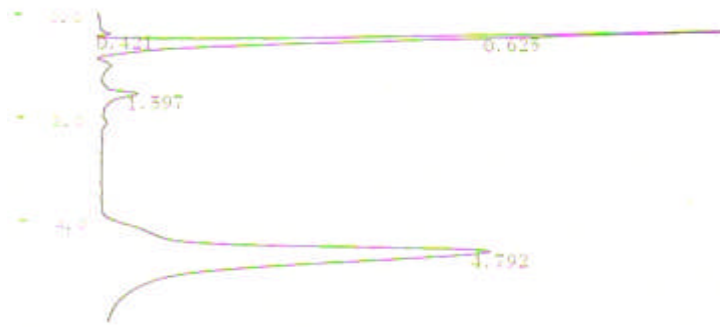
t = 4jour.



t = 6jour.

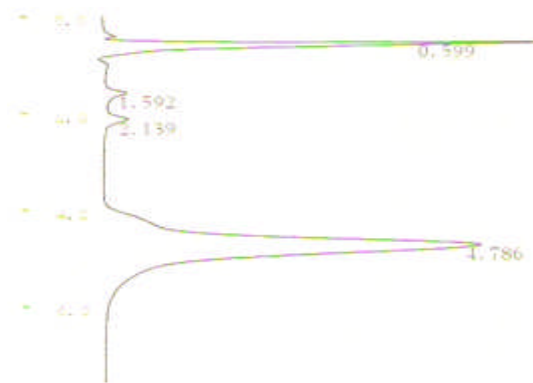


t = 8jour.

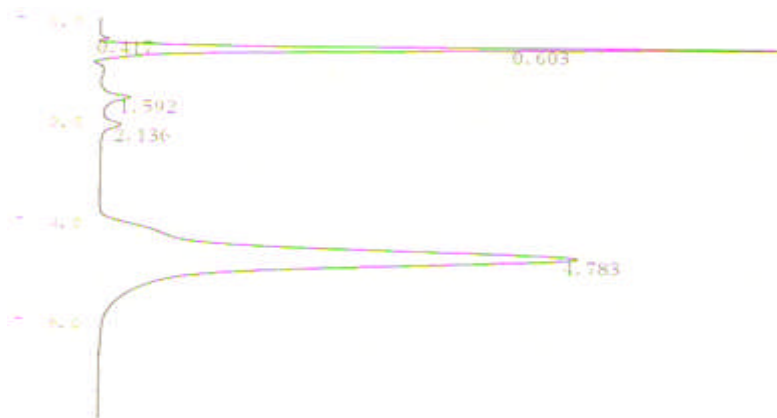


25 mg/l:

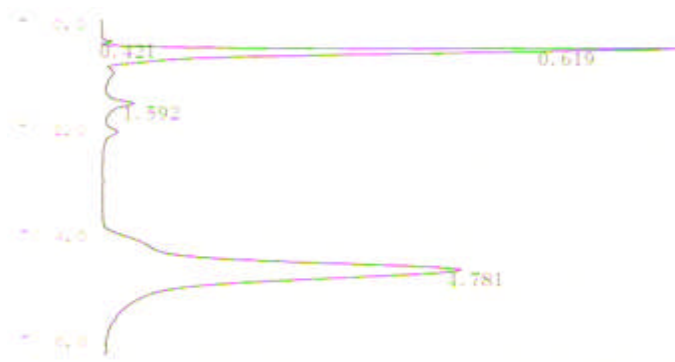
t = 0jour.



t = 2jour.



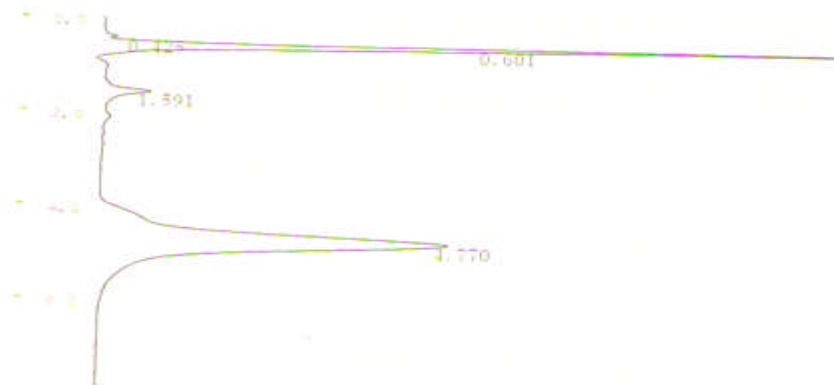
t = 4jour.



t = 6jour.



t = 8jours.



LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

Biodégradation : Phénomène généralement lié à l'action de micro organismes des sols ou des eaux qui permettent la dégradation (minéralisation) – et en règle générale – la neutralisation d'agents polluants dans les milieux terrestres ou aquatiques.

Bioessais : Tests biologiques ou biotests effectués en laboratoire. Ils ont pour objet de déterminer à l'aide d'expérimentations sur divers types d'êtres vivants la toxicité de substances chimiques.

CE 50 : Concentration efficace 50 %. Concentration d'un polluant qui cause un effet toxique donné chez 50 % des individus exposés après un temps d'exposition normalisé.

CI 50 : Concentration d'inhibition 50 %. Il s'agit de la concentration d'un toxique qui, après un temps donné d'action, provoque une inhibition d'activité (chez 50 % des individus faisant l'objet du bioessais).

CL 50 : Concentration létale 50 %, c'est à dire la concentration d'un polluant toxique de l'air ou des eaux provoquant 50 % de mortalité dans une population exposée à ce dernier.

Contamination : Processus par lequel un biotope - et (ou) une population, voire une communauté toute entière - se trouve exposé à un polluant chimique ou radioactif.

Danger : Le danger d'une substance est sa toxicité potentielle vis à vis des organismes. La toxicité est évaluée par des tests en laboratoire (bioessais), ces tests donnent une concentration seuil au delà de laquelle la substance est toxique.

DL50 : Dose létale 50%. Dose d'un toxique qui cause 50 % de mortalité dans une population exposée au bout d'un temps donné.

Ecosystème : Système dans lequel il existe des échanges cycliques de matières et d'énergie dus aux interactions entre les différents organismes présents (biotope) et leur environnement (biocénose).

Pesticides : Ce terme regroupe les herbicides, les insecticides, fongicides... Ce sont des substances chimiques utilisées pour la protection des cultures contre les maladies, les insectes ravageurs ou les «mauvaises herbes».

Pollution : Introduction directe ou indirecte, par suite de l'activité humaine, de substances ou de chaleur dans l'air, l'eau ou le sol, susceptibles de porter atteinte à la santé humaine ou à la qualité des écosystèmes aquatiques ou des écosystèmes terrestres, qui entraînent des détériorations aux biens matériels.

Toxicité : Particularité propre à diverses substances dont l'absorption a pour effet de perturber le métabolisme des êtres vivants, provoquant des troubles physiologiques pouvant aller jusqu'à la mort des individus exposés. En fonction de l'intensité et de la rapidité des effets, on distingue une toxicité aiguë, une toxicité subaiguë et une toxicité à long terme encore dénommée toxicité chronique, résultant de l'exposition permanente à de faibles concentrations d'un toxique.

Toxicologie : Science dont l'objet est l'étude des substances toxiques dans l'environnement de l'homme et dans les populations et les individus exposés ainsi que des effets biologiques qui en résultent, en particulier au plan pathologique pour notre espèce ainsi que pour l'ensemble des êtres vivants.

Bioaccumulation : Augmentation de la concentration d'un produit chimique dans les organes et les tissus des organismes, due à la consommation d'eau ou de nourriture contaminée.

Bioconcentration : Accumulation par les organismes aquatiques de polluants à une concentration supérieure à celle mesurée dans l'eau.

Biodiversité : Diversité des espèces, variabilité génétique entre les espèces. Différences entre écosystèmes ou à l'intérieur d'un même écosystème; variété et variabilité de tous les animaux, plantes et microorganismes vivant sur terre.

mg : milligramme.

M.F : matière fraîche.

mg.L⁻¹ : milligramme par litre.

µg : microgramme

FE : Fenitrothion.

ROS : Formes réactives de l'oxygène. (ERO)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Rachel Dosnon-Olette ; « Phytoremédiation d'eaux contaminées par des pesticides: tolérance et capacité d'élimination par des plantes aquatiques. » 2009. Université de Reims Champagne-Ardenne.
2. Jean-Philippe Camard, chargé d'études à l'ORS et Christophe Magdelaine; « Produits phytosanitaires risques pour l'environnement et la santé. » 2010. Connaissances des usages en zone non agricole AU Île-de-France.
3. D. Schrack , X. Coquil, A. Ortar, M. Benoît;. « Rémanence des pesticides dans les eaux issues de parcelles agricoles récemment converties à l'Agriculture Biologique ». Innovations Agronomiques (2009) 4, 259-268.
4. Sergio, Santiago., Kristin, Becker van Slooten., Nathalie, Chèvre., Michel, Pardor., Christophe, Benninghoff., Marc, Dumas., Eric, Thyband., Frédéric, Garrinier., « Guide pour l'utilisation des tests écotoxicologiques avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les algues vertes, appliqués aux échantillons de l'environnement » Edition Soluval Santiago, 2002, 56p
5. Le Média Libre « L'Algérie est un grand consommateur de pesticides. » Journal Algérien; 2008.
6. Helfield J.M., Diamond M.L., « Use of constructed wetlands for urban stream restoration: a critical analysis ». 1997. Environ. Manage., 21, 329-341.
7. Mungur A.S, Shutes R.B.E., Revitt D.M., House M.A., « An assessment of metal removal from highway runoff by a natural wetland Water ». 1995. Sci. Technol., 32, 169-175.
8. Demchik M., Garbutt K., « Growth of woolgrass in acid mine drainage ». 1999. J. Environ. Qual., 28, 243-249.
9. Dunbabin Y.S., Bowmer K.H., « Potential use of constructed wetlands for treatment of industrial wastewaters containing metals. » Sci. 1992. Total Environ. 111, 151-168.
10. Ellis J.B., Shutes R.B, Revitt D.M., Zhang T.T., « Use of macrophytes for pollution treatment in urban wetlands. » Resour. Conserv. Recy., 11, 1-12.
11. Raskin, I., Smith, R.D., Salt, D.E., « Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment ». Curr. Opin. Plant Biol., (1997c) 8, 221-226.

12. Meagher R.B., « Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants ». 2000. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 3, 153-162.
13. Vymazal J., Brix H., Cooper P.F., Haberl R., Perfler R., Laber J., « Removal mechanisms and types of constructed wetlands ». Dans : *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment in Europe*, 1998. (Éditeurs), 17-66.
14. Braun M., « L'épuration des eaux usées par lagune à Lemna. » 1995. *N.S.T.*, 13, 261-267.
15. Oron g., De Vergt A., Porath D., « The role of the operation regime in waste water treatment with duckweed ». 1987; *Water Sci. Technol.*, 19, 97-105.
16. Gijzen, H.J. et Veenstra, S., « Duckweed-based wastewater treatment for rational resource recovery and reuse. » Dans : *Environmental Biotechnology and Cleaner Bioprocesses, Part II: Recycling and Treatment of Organic Wastes*. 2000. Taylor and Francis, Philadelphie, 83-100.
17. Oron P., Porath D., « Performance of the duckweed species Lemna gibba on municipal wastewater for effluent renovation and protein production. » 1987. *Biotechnol. Bioeng.*, XXIX, 258-268.
18. Mandi I., « Marrakesh waste water purification experiment using aquatic plants *Echornia crassipes* and *Lemna gibba*. » 1994 ; *Water Sci. Technol.*, 283-287.
19. Ezzahri J., Ennabili A., Ater M., Radoux M., « Épuration extensive des eaux usées urbaines : expérimentation sous-climat méditerranéen (M'diq, Nord-Ouest du Maroc). » 2001. *Ann. Chim-Sci. Mat.*, 26, S297-S311.
20. O.N.E.P., « Contrôle de la pollution des eaux. » 1988. Rapport, Office National de l'Eau Potable, Maroc.
21. Ater, M., Aït Ali, N., Kasmi, H., « Tolérance et accumulation du cuivre et du chrome chez deux espèces de lentilles d'eaux: *Lemna minor* L. et *Lemna gibba* L. » *Journal of Water science*, vol. 19, n°1, (2006), 57-67.
22. Smain Megateli : « Etude de la toxicité de trois métaux lourds (cuivre, cadmium et zinc) et d'un fongicide (diméthomorphe) sur une plante aquatique: perspectives d'utilisation en phytoremédiation » .2010. These de doctorat.
23. Tkalec M., Vidakovic Cifrek Z., Regula I., « The effect of oil industry «high density brines» on duckweed *Lemna minor* L. ».1998. *Chemosphere.*, 13, 2703-2715.

- 24.** Mohan B.S., H.B.B., « Potential phytotoxicity of lead and cadmium to Lemna minor grown in sewage stabilisation ponds.» 1997. Environ. Pollut., 2, 233-238.
- 25.** Wang W.,«Toxicity tests of aquatic pollutants by using common Duckweed.»1986. Environ. Pollut. B, 11, 1-14.
- 26.** Huang X.D., Dixon D.G., Greenberg B.M., «Increased polycyclic aromatic hydrocarbon toxicity following their photomodification in natural sunlight. Dans: Impacts on Duckweed Lemna gibba L ». 1995. G3. Ecotox. Environ. Saf., 32, 194-200.
- 27.** Hartman W.A., Martin D.B.,« Effect of four agricultural pesticides on Daphnia pulex, Lemna minor and Potamogeton pectinatus.» 1985. Bull. Environ. Contam. Tox., 35, 646-651.
- 27.** Strother S., « Toxic effects of exogenous sorbose on Lemna minor and some other angiosperm. » 1981. Ann. Bot.-London, 47, 531-533.
- 29.** Olette, R., Couderchet, M., Biagianti, S., Eullaffroy, P., « Toxicity and removal of pesticides by selected aquatic plants. » 2008. Chemosphere 70, 1414–1421.
- 30.** Karine Esteve « Procédé de traitement biologique aérobie d'effluents phytosanitaires en viticulture » 2007.
- 31.** Institut Français de l'environnement. « Les pesticides dans les eaux : données 2003 et 2004 ». Numéro 05 Août 2006.
- 32.** Magali De Luca. « Contribution à la modélisation de la pulvérisation d'un liquide phytosanitaire en vue de réduire les pollutions ». 2007 CEMAGREF 361 rue J.F Breton - B.P. 5095 - 34196 Montpellier. Thèse de doctorat.
- 33.** Eneida Reyes-Perez : « chimie multiphasique des pesticides dans l'air : distribution et photoreactivite. » 2009.
- 34.** Aida Kesraoui-Abdessalem. « Dégradation des pesticides chlortoluron, carbofurane et bentazone en milieux aqueux par les procédés d'oxydation avancée. ». 2008.
- 35.** Laurent Elisabeth. « Matériaux mésomorphes a empreinte moléculaire pour le développement d'un capteur de pesticides ». 2008. Doctorat de l'université de Toulouse.
- 36.** IUPP, Union des Industries de la Protection des Plantes UIPP, 2004.

- 37.** John R. Cox¹ « Echantillonnage en vue de l'analyse de résidus de pesticide » Natural Resources Institute, University of Greenwich at Medway, Central Avenue, Chatham Maritime, Kent ME4 4TB, Royaume Uni.
- 38.** S. Sanson. « Typologie des produits phytosanitaires utilisés et leur devenir ». Magazine: Les Phytosanitaires; Septembre, 2000.
- 39.** H. V. Kuhnlein. « Benefits and risks of traditional food for indigenous peoples: focus on dietary intakes of arctic men ». Can. J. Physiol. Pharmacol., 73:749–771, 1995.
- 40.** Behloul Samia : « Evaluation de la matière organique dans l'eau du barrage de Timgad. » 2009. Magister En Chimie de l'Eau / Dessalement et Environnement.
- 41.** Jeanne Garric « La contamination des eaux superficielles par les produits phytosanitaires ». 2010; Les effets sur le milieu aquatique.
- 42.** P. E. K. Symons and Janice L. Metcalfe « Canada Mortality, recovery, and survival of larval *Brachycentrus numerosus* (Trichoptera) after exposure to the insecticide fenitrothion » (1978); Can. J. Zool. 56(6): 1284–1290.
- 43.** Centre de toxicologie du Québec : « les pesticides organophosphorés : symptomatologie d'une intoxication par les organophosphorés. »
- 44.** Makram Hedhli « phytorestauration des sédiments de la rivière saint-charles et du port de montréal contaminés aux métaux lourds et aux hydrocarbures aromatiques polycycliques. » Avril 2010.
- 45.** Dalal JAWICH « Etude de la toxicité de pesticides vis-à-vis de deux genres de levures : approche cinétique et moléculaire. » 2006.
- 46.** Seye F., Ndione R.D., Ndiaye M. « Effets larvicides des produits de neem (huile de neem pure et Neemix) comparés à deux insecticides chimiques de synthèse (la Deltaméthrine et le Fénitrothion) sur les larves du moustique *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae) » 1991. Les activités scientifiques.
- 47.** Eric THYBAUD « Ecotoxicologie du lindane et de la deltaméthrine en milieu aquatique » Article « Revue des sciences de l'eau. » 2010. Journal of Water Science, vol. 3, 1990, p. 195-209.
- 48.** Omar Ben Khatab Ndiaye., « Technologies de décontamination de sols contaminés par des pesticides au Mali. » 2010.
- 49.** Tamura, SC Maness, K Reischmann, Dorman DC , Le Gray , KW Gaido . « L'antagonisme du récepteur des androgènes par le fénitrothion insecticide »

organophosphorés. ». Département de biochimie appliquée, Université Meijo, Nagoya 468-8502, Japon.

50. FAO : « Évaluation de la contamination des sols : manuel de référence. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. » 198 p. (Collection Élimination des pesticides 8). (2009).

51. Épandages massifs d'insecticides chimiques «Toxiques, mais nécessaires» 2006.

52. B. Seri-Kouassi, K.Foua Bi, K.A. Bekon « Etude Comparative Des Effets de l'actellic Super, Du Fenitrothion Et Du Carbaryl Sur la Mortalité De *Sitophilus Oryzae* L. (Coleoptera-curculionidae) ».

53. Andreux, F., Jacquin, F., Metche, M., « Etude de la minéralisation et de l'humification biologique d'autolysats foliaires de *Juglans regia* », Ed. C.R. Ac. Sci, Paris, V.270, (1970), pp.3017-3020.

54. Zamy, C.C., Mazellier, P., Legube, B. « Phototransformation of selected organophosphorus pesticides in dilute aqueous solutions ». *Water Research*, 38, 20305-2314.

55. Day, K. E.; Maguire, R. J. « Acute toxicity of isomers of the pyrethroid insecticide deltamethrin and its major degradation products to *Daphnia magna*. » 1990. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9, 1297-1300.

56. Day, K.E. et V. Hodge. « The toxicity of the herbicide metolachlor, some transformation products and a commercial safener to an alga (*Selenastrum capricornutum*), a cyanophyte (*Anabaena cylindrica*) and a macrophytes (*Lemna gibba*) » 1996. *Water Quality Research Journal Canada*.

57. Guillard, C., Fischer, M., Herrmann, J-M., Agüera, A., Tejedor, A., Piedra, L., Fernandez- Alba A. « Analyse des métabolites de dégradation photo catalytique de divers pesticides dans les eaux de la région d'Almeria (Espagne). » 2001. Actes du 30ème congrès du groupe français des pesticides, pp : 29-37.

58. Lanyi, K. et Dinya, Z «Photodegradation study for assessing the environmental fate of some triazine-, urea- and thiolcarbamate-type herbicides.» *Microchemical Journal*, 80, 79-87. 2005.

59. Sinclair, S.J. et Boxall, A.B.A. « Assessing the Ecotoxicity of Pesticide Transformation Products » . 2003. *Environmental Science and Technology*, 37, 4617-4625.

- 60.** Chaney RL, Malik M, Li YM, Brown S., Brewer EP, Angel JS, Baker AJ, « Phytoremédiation des matériaux du sol », *Curr Opin Biotechnol.*, 1997. 8:279-284 *Biotechnol*, 8:279-284. »
- 61.** Rika Kodaka, Terumi Sugano, Toshiyuki Katagi and Yoshiyuki Takimoto « Aerobic Aquatic Metabolism of Fenitrothion and Its Oxon Analog in water-Sediment Systems » *J.Pesticide Sci.* 27, 235,-241 (2002). Original Article; Takarazuka, Hyogo 665-8555, Japan.
- 62.** Caroline Grégoire. « Mitigation of agricultural nonpoint-source pesticide pollution and bioremediation in artificial wetland ecosystems ». 2008 Scientifique du projet ArtWE TENGEES.
- 63.** Turgeon, M., Delisle, S., & Drouin, K. « Phytoremédiation des composés organiques ». Unpublished manuscript. (2008d).
- 64.** Mohamed Chakib EDELAHI. « Contribution à l'étude de dégradation in situ des pesticides par procédés d'oxydation avancés faisant intervenir le fer. Application aux herbicides phénylurées ». 2004. Thèse de doctorat.
- 65.** Ferro, A., Chard, J., Kjeldsen, R., Turner, D., Montague, T., « Ground Water capture using hybrid poplar trees: evaluation of a system in Ogden, Utah ». *Int.j. Phytoremed.* 3, (2001), 87-104.
- 66.** Mkandawire, M., Lyubun, Y.V., Kosterin, P. V., Dudel, E.G., « Toxicity of arsenic species to *Lemna gibba* L. and the influence of phosphate on arsenic bioavailability ». *Environ. Toxicol.*, 19, (2004), 26-35.
- 67.** Robinson, B.H., Lombi, E., Zhao, F.J., McGrath, S.P., « Uptake and distribution of nickel and other metals in the hyperaccumulator *Berkheya coddii* ». 2002.
- 68.** Kamal, M., Ghaly, A.E., Mahmoud, N., Côté, R., « Phytoaccumulation of heavy metals by aquatic ». *Environ. Int.* 29, (2004), 1029-1039.
- 69.** Thi My Dung HUYNH., « Impacts des métaux lourds sur l'interaction plante/ver de terre/ microflore tellurique. » 2009.
- 70.** Armelle Braud ; « Procédé de phytoextraction couplé à la bioaugmentation d'un sol agricole polycontaminé par du chrome, du mercure et du plomb » ; 2007
- 71.** Bernard, Clément; « Apports des essais en microcosmes aquatiques lenticulaires de laboratoire à l'évaluation écotoxicologiques des polluants », V1, (2006). 288p. Mémoire pour obtenir le diplôme d'Habilitation à Diriger des

Recherches délivré conjointement par l'institut national des sciences appliquées.

72. Moussa Moumouni Djermaakoye Hamsatou., « Caractéristiques physico-chimiques, bactériologiques et impact sur les eaux de surface et les eaux souterraines » 2005.

73. Hillman, W.S., Culley, J.D.D., « The use of duckweed », Am.Scient., 66,(1978),442-451.

74. O.I.E (Office International de l'eau), «Plantes aquatiques utiles ; les lentilles d'eau ou Lemnacees ». Ed. Tec & doc, lavoisier.France, (1984), 69p.

75. RA Leng, JH Stambolie and R Bell Long RA, Stambolie JH et Bell R « Les lentilles d'eau - une ressource potentielle d'alimentation riche en protéines pour les animaux domestiques et les poissons. » Centre de recherche et développement Université de la Nouvelle-Angleterre.

76. AFNOR : (Association Française de Normalisation). Essais Ecotoxicologiques. « Détermination de l'inhibition de croissance de *Lemna minor*. », 1998 ; norme XP T 90-337, Normalisation Française, 671. Paris.

77. Fujisawa, T., Kurosawa, M., Katagi, T., « Uptake and Transformation of pesticide Metabolites by Duckweed (*Lemna gibba*) ». Agric. Food Chem., 54, (2006), 6286-6293.

78. AFNOR : (Association Française de Normalisation). Essais Ecotoxicologiques. « Détermination de l'inhibition de croissance de *Lemna minor* ». norme XP T 90-337, Normalisation Française, AFNOR, Paris, 1996. 2, 437-446.

79. Wang, W., « Chromate ion as reference toxicant for aquatic phytotoxicity tests ». Environ. Toxicol. Chem., 6, (1987), 953-960.

80. Wahaab AR, Lubberding HJ, Alaerts GJ, « Copper and chromium (III) uptake by duckweed ». 1995.

81. Anawar HM, Garcia-Sanchez A, Tari Kul Alam M, Majibur Rahman M, «Phytofiltration of water polluted with arsenic and heavy metals ». 2008. Int J Environ Pollut 33, 292-312.

82. Gadgil K, Kaur L, Sharma S, « Simulated studies on lead uptake by *Lemna minor* with varying lead concentrations in different alkaline range». 2008. Indian J Environ Protect 28, 961-966.

- 83.** Rice PJ, Anderson TA, Coats JR, « Phytoremediation of herbicide-contaminated surface water with aquatic plants » 1997. ACS Symposium Series 664, 133-151.
- 84.** Gao J, Garrison AW, Hoehamer C, Mazur CS, Wolfe NL, Uptake and « phytotransformation of organophosphorus pesticides by axenically cultivated aquatic plants. » 2000. J Agr Food Chem 48, 6114-6120.
- 85.** Mitsou K, Koulianou A, Lambropoulou D, Pappas P, Albanis T, Lekka M, « Growth rate effects, responses of antioxidant enzymes and metabolic fate of the herbicide Propanil in the aquatic plant Lemna minor » . 2006 Chemosphere 62, 275-284.
- 86.** Tront JM, Saunders FM, « Role of plant activity and contaminant speciation in aquatic plant assimilation of 2, 4, 5-trichlorophenol ». 2006. Chemosphere 64, 400-407.
- 87.** Amiard, Jean-Claude., Claude, Amiard-Triquet., « Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques » Edition Tec et Doc Lavoisier. ISBN : 978-2-7430-1017-1, 2008.
- 88.** Genevieve, Deviller., « Traitement par lagunage à haut rendement algal (LHRA) des effluents piscicoles marins recyclés : évaluation chimique et écotoxicologiques » Thèse de doctorat, Université Montpellier I, 2003, 172p.
- 89.** Sabrina, Barillet., « Toxicocinétique, toxicité chimique et radiologique de l'uranium chez le poisson zèbre (danio rerio) » Thèse de doctorat, université Paul Verlaine de Metz, 2007, 475p.
- 90.** Jaka Razinger, Dermastia Marina, Luka Drinovec, Drobne Damjana, Alexis, Zrimec et Jasna Dolenc Koce. « Espèce réactive de l'oxydation: Les réponses antioxydantes des lentilles d'eau (Lemna minor) à court terme « Cuivre-exposition ». Environ Pollut Sci Res 2006. 11.364.87
- 91.** Garcia PC, Rivero RM, Ruiz JM, Romero L. « The role of fungicides in the physiology of higher plants: implications for defense responses ». (2003) Bot Rev 69:162–172
- 92.** Dietz, K.J., Baier, M., Kramer, U., « Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants ». 1999.
- 93.** Sies H.; « Oxidative stress: oxidants and antioxidants. » Experimental Physiology 82(2) (1997): 291-295.

- 94.** Hoagland, D.R., Arnon, D.I., «The water culture method for growing plants without soil ». California Agriculture Experimental Station Circular 347, Berkely, California, USA, 1938.
- 95.** Wang, W. « The effect of river water on phytotoxicity of Ba, Cd and Cr». *Environ. Pollut.*, 11 (1986b), 1-14.
- 96.** Rodier J., Bazin C., Broutin J. C., Chambon P., Champsaur H., Rodi L., 1996, « L'analyse de l'eau ». 8ème édition, Dunod, Paris, 1383 pp.
- 97.** Aebi, H., « Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*». 1984. 105, 121-126.
- 98.** Patsikka, E., M. Kairavuo, F. Sersen, E. M. Aro and E. Tyystjarvi. « Excess copper perdispose photosysteme II to photoinhibition in vitro by out competing iron and causing decrease in leafchlorophyll ». *Plant physiolo.*, Vol. 129, (2002). P. 1359-1367.
- 99.** Roman, L., Roman, T., R., Milea, I., « Cercetari cu privire la nutritia a stufului II Dinamica asimilarii azotului la stuf in decursul Unui ciclu anual de Vegetatie celluloza hirt ». 18(1) , (1969).p.1-9.
100. Walstad, L.D., « Ecology of the planted aquarium : a practical manual and scientific treatise for the home aquarist », Virginie, Etats unies, (2003). P. 107-108.
- 101.** Cedergreen, N., Anderson, L., Olesen C.F., Spliid H.H. Streibig J.C., « Does the effect of herbicide pulse exposure on aquatic plants depend on Kow or mode of action. », *Aquat. Toxicol.* 71, (2005), 261-271.
- 102.** Krieger-Liszky, A. and A. W. Rutherford. «Influence of herbicide binding on the redox potential of the acceptor in photosystem II: relevance to photodamage and pytotoxicity ». *Biochemistry*, vol 37, (1998), p. 17339-17344.
- 103.** Ikeda, Y., S. Ohki, K. Koizumi, A. Tanaka, H. Watanabe, H. Kohno, J.J. Van Rensen, P. Boger and K. Wakabayashi.« Binding site of novel 2-benzylamino-4-methyl-6 trifluoromethyl-1, 3, 5-triazine herbicides in the D1 protein of photosystem II ». *Photosynth. Res.*, vol. 77, (2003), p. 35-43.

INTRODUCTION

Chaque année, des milliers de tonnes de contaminants provenant de sources domestiques, industrielles et agricoles sont déversés directement ou indirectement dans les eaux de surface. Parmi les polluants majeurs sont cités, entre autres, des éléments issus des engrais contenant donc azote et phosphore, des pesticides et des métaux lourds. [1] L'utilisation des pesticides a connu un développement important au cours des dernières décennies. La dégradation dans les eaux et des milieux aquatiques est préoccupante. [2] Cette utilisation importante de pesticides peut induire des pollutions aiguës et chroniques des eaux superficielles et souterraines. [1] A la suite de l'application des produits phytosanitaires, ces molécules sont susceptibles de quitter leur site d'application et sont alors considérées comme des micropolluants organiques à l'origine de la pollution de tous les compartiments environnementaux. [3]

L'utilisation de pesticides a pour conséquence une contamination de l'environnement et en particulier les eaux souterraines et superficielles. La présence de pesticides dans les eaux est observée longtemps après la fin de leur utilisation. Les interactions complexes au sein du sol immobilisent les pesticides et influencent ainsi leurs transferts vers les eaux de surface qui peuvent entraîner une contamination durable. La persistance des pesticides apparaît très variable. Les études portant sur la dégradation et la persistance des pesticides sont nombreuses mais peu de ces recherches les évaluent à long terme. [3] L'ensemble de la communauté scientifique s'accorde sur le danger et la nocivité des produits phytosanitaires. Cependant, les avis divergents quant à l'importance de leurs effets. La toxicologie et l'écotoxicologie des pesticides sont encore à développer. [4].

L'Association algérienne pour la protection de l'environnement tire la sonnette d'alarme : « L'Algérie est un grand consommateur de pesticides: 30

000 tonnes sont « épandues » chaque année. Les conséquences sanitaires de l'exposition à ces milliers de composants chimiques, par le biais de l'eau et de l'alimentation, sont massives et inquiétantes ». [5]

Bien que les procédés conventionnels de traitements des eaux résiduaires soient normalement conçus pour le traitement des eaux usées domestiques, ils peuvent avoir des applications plus larges, comme la restauration des cours d'eaux pollués [6], le traitement des drainages des routes [7] ou encore des rejets particuliers, comme le drainage des mines [8] ou les rejets industriels [9]. Pour ces différentes utilisations, ils doivent faire face à des pollutions de natures multiples, dont les pesticides qui constituent l'une des principales sources [10]. La phytoremédiation s'avère une technologie appropriée à certains polluants comme les pesticides où les techniques sont à mettre en œuvre. Elle est basée sur l'utilisation des plantes pour la décontamination des eaux et des sols contaminés par des polluants. [11 ; 12]

Dans cet axe, on se propose d'examiner et de comparer l'efficacité de plantes aquatiques dans la diminution de la charge polluante en pesticides dans le milieu et donc d'évaluer leur potentiel pour une application future en phytoremédiation des écosystèmes aquatiques d'eau douce. [1]

Les technologies extensives sont fondées sur le principe de la reconstitution d'écosystèmes artificiels dont les macrophytes sont l'élément de base (Vymazal et al., 1998), [13], d'où l'attention particulière qu'on doit accorder à l'évaluation de la tolérance et l'accumulation des polluants courants comme les pesticides par les macrophytes. Parmi le large éventail des systèmes apparentés aux technologies extensives, il y a les systèmes à lentilles d'eau (Braun, 1995 ; Oron et al., 1987). [14;15]. Ces systèmes sont exploités pour le traitement des eaux usées dans différentes régions du monde comme l'Asie (Gijzen et Veenstra, 2000), [16], Israël et les Etats-Unis (Oran et Porath, 1987) [17]. Au Maroc, ce type de système a été essayé aussi bien à l'échelle expérimentale (Mandi, 1994 ; Ezzahri et al., 2001) [18;19] que pilote (ONEP, 1988) [20]. Dans la région méditerranéenne, en général, et particulièrement en Algérie, les espèces de lentilles d'eau les plus communes sont: *Lemna minor L.* et *Lemna gibba*. [21]

C'est dans cette perspective que s'inscrit l'objectif de ce travail qui est l'évaluation de la tolérance et l'élimination d'un pesticide (insecticide organophosphoré) par *L. gibba*. Ainsi, on pense apporter une contribution originale sous forme d'une étude de potentialité de cette espèce de lentille d'eau, vis-à-vis de l'insecticide Fenitrothion. Le choix de ce type de polluant a été guidé par sa toxicité modérée et son utilisation dans la région de la Mitidja. D'autre part, les lentilles d'eau constituent un bon modèle expérimental vu leur croissance rapide et la facilité de culture et de récolte [22]. En effet, elles ont été très utilisées pour l'évaluation de la toxicité des polluants, comme les huiles industrielles (Tkalec et *al.*, 1998), [23], les métaux lourds (Mohan et Hosetti, 1997 ; Wang, 1986), [24 ; 25], les hydrocarbures (Huang et *al.*, 1995) [26], et les pesticides (Hartman et Martin, 1985). [27]. Chez les lentilles d'eau, l'effet des substances toxiques peut être estimé par différents paramètres comme le nombre des frondes, la biomasse et la surface foliaire (Tkalec et *al.*, 1998 ; Wang, 1986) [23 ;25], le taux des enzymes respiratoires comme la catalase et la peroxydase (Mohan et Hosetti, 1997) [24] et la teneur en chlorophylle et en azote (Strother, 1981) [28]. Le nombre de frondes (NF) et la biomasse (PF), en plus de leur large utilisation, présentent l'avantage d'être simples et compatibles avec un grand dispositif expérimental. [21].

Pour répondre à l'objectif de ce travail, 4 chapitres principaux sont présentés:

La première partie est consacrée à l'évaluation de l'efficacité du procédé de dégradation des molécules phytosanitaires. Dans Le deuxième chapitre, les différentes approches permettront d'évaluer le potentiel épuratoire des matières actives et identifier et caractériser les mécanismes de dégradation, d'analyser le comportement de la biomasse épuratrice vis-à-vis des matières actives et de définir les conditions de fonctionnement du traitement biologique.

Le troisième chapitre, est consacré à l'exposé des matériels et méthodes.

Dans le quatrième chapitre, sont présentés les résultats obtenus avec une discussion basée sur la littérature bibliographique.

La conclusion permet une synthèse des principaux résultats obtenus lors de l'élaboration de ce procédé en développement. Des perspectives sont évoquées en termes de complément d'expérimentations et d'utilisations futures des données acquises dans un objectif d'aménagement sur un site réel de ce procédé.

CHAPITRE 01.

LES PRODUITS PHYTOSANITAIRES ET LEURS IMPACTS ENVIRONNEMENTAUX.

1.1. Introduction :

La pollution de l'environnement par des effluents variés est un problème écologique majeur qui prend une dimension de plus en plus alarmante suite à l'industrialisation et au développement des activités anthropiques diverses [29]. Les enjeux environnementaux et sanitaires liés aux pollutions toxiques dans les milieux aquatiques sont au cœur de nombreux débats de société et la prise de conscience de la nécessité de réduire la pollution toxique est de plus en plus importante [30]. Les programmes d'action engagés pour lutter contre ces pollutions toxiques suivent une démarche cohérente qui passe par une phase de diagnostic, de définition des objectifs, de mise en œuvre des actions et de suivi de leur efficacité.

L'objet de ce travail est d'apporter des éléments de base à la compréhension des problèmes de pollution toxiques. Il a la vocation à être actualisé au fur et à mesure de l'amélioration des connaissances et de la poursuite des actions de lutte contre la pollution toxique. Par conséquent, et face à cette dualité bénéfice-risque, la protection de la santé humaine contre l'exposition aux pesticides demeure une préoccupation majeure, et le problème de résidus toxiques reste d'actualité. [30]

1.2. Impact environnemental des produits phytosanitaires:

Les produits phytosanitaires, appelés couramment pesticides, représentent toutes les substances chimiques utilisées pour préserver les plantes cultivées. Pour compléter cette définition, il est essentiel de rappeler que le terme produit Phytosanitaire désigne la substance active et les préparations commerciales constituées d'une ou plusieurs substances actives.

La substance active est la molécule qui détruit ou empêche l'ennemi de la culture de s'installer. A cette substance active, sont associées dans la formulation un certain nombre de formulant (mouillants, solvants, anti-mousses,...) qui la rendent utilisable par l'agriculteur. [1]

Les produits phytosanitaires sont composés de substances actives répertoriées selon leur structure chimique, leur mode d'action et d'utilisation et leur interaction avec l'environnement. Ils peuvent être principalement classés en considérant deux critères : La classe chimique et l'organisme cible.

L'identité d'une matière active pour déterminer la famille à laquelle elle appartient est constituée :

- des propriétés physiques (température de changement d'état, solubilité,...),
- des propriétés chimiques (acidité, aptitude à subir l'hydrolyse,...),
- des propriétés organoleptiques (couleur, gout, activité toxique,...).

Les pesticides appliqués en agriculture contaminent significativement l'environnement. Ces dernières années, de nombreux pesticides ont fait l'objet d'interdiction ou de réévaluation. Ils agissent aussi indirectement sur notre environnement à partir des vecteurs de diffusion qui sont l'air et l'eau. On les retrouve notamment sous forme aqueuse : dans les eaux des rivières, les eaux usées, les eaux souterraines et les eaux de pluie [31]. Ce problème se pose pour les substances actives mais également pour leurs métabolites. [32]

1.3. Généralité sur les pesticides:

On retrouve actuellement les pesticides ou leurs résidus partout dans l'environnement. [33] L'utilisation de pesticides entraîne le plus souvent des pertes de produits plus ou moins importantes contaminant l'environnement. Des pesticides sont ainsi retrouvés dans les eaux (souterraines, de surface (pluies, cours d'eau...)), dans les sols, et dans l'atmosphère. Toute la chaîne alimentaire peut ainsi être affectée par les pesticides. [34]. En effet, la pollution environnementale est en grande partie dépendante des phénomènes naturels dont l'intensité relève des aléas météorologiques mais aussi de techniques

agricoles utilisées qui sont parfois inadaptées. Les pesticides ont des effets nocifs sur l'homme mais aussi sur les animaux et les plantes. Ainsi, 15 à 20% de ces produits chimiques sont cancérogènes et la plupart d'entre eux sont des perturbateurs endocriniens [33]. (Fig 1.1).

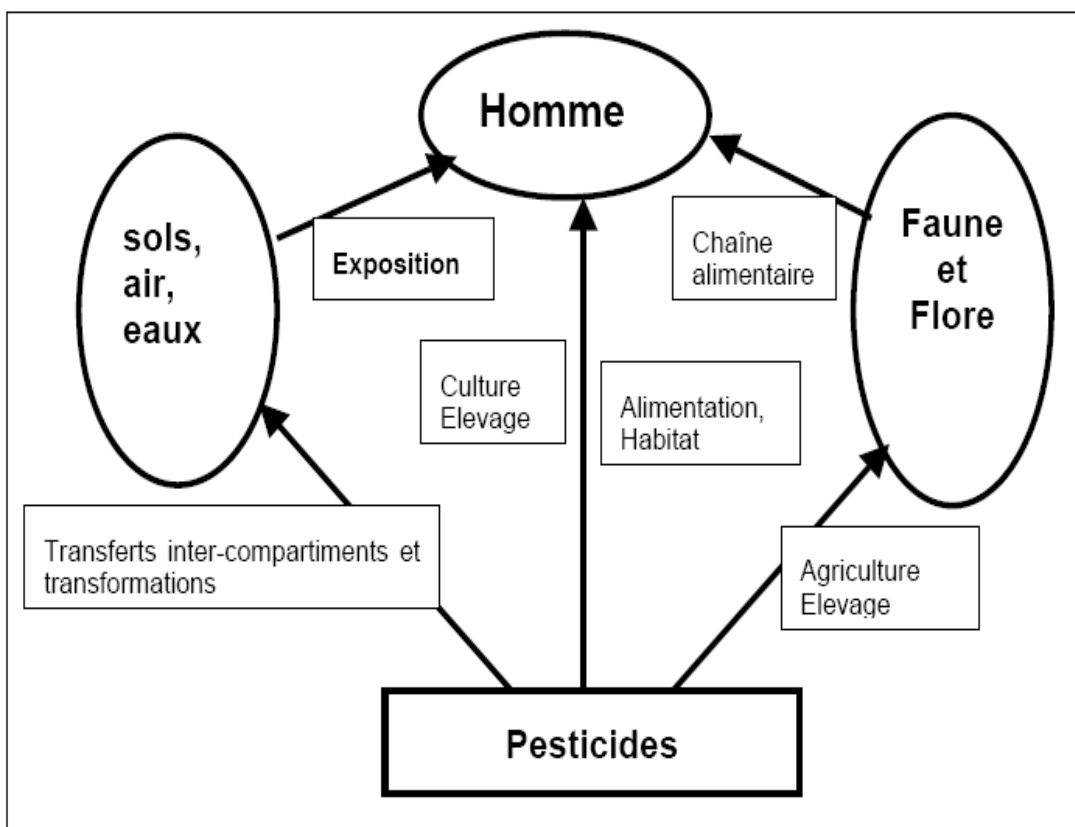


Figure 1.1 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides. [33]

L'utilisation des pesticides, se révèle problématique par les pollutions qu'elle génère dans l'environnement et sur les aliments que nous consommons. Les réglementations ont évolué afin de protéger le consommateur final des effets des résidus de pesticides en fixant des limites de quantité par g de produit ou par litre de liquide. [34].

1.4. Classification :

Les produits phytosanitaires disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité avec une classification complexe. Ils regroupent plus de 900 matières actives qui rentrent dans plus de 8800 spécialités commerciales [35]. D'une

manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose. [1]

1.4.1. Classification par catégorie de produits :

Le premier système de classification repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles chimiques qui sont : les herbicides, les fongicides et les insecticides : [36].

- Les herbicides : représentent la fraction en pesticides la plus utilisée dans le monde, presque 50% (figure 1.2). Ils sont destinés à éliminer la végétation indésirable rentrant en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance. (Stenersen. J, 2004).
- Les fongicides : permettent quant à eux de combattre l'accroissement des maladies des plantes, provoquées par des champignons ou encore des bactéries.
- Les insecticides : sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en les éliminant ou en empêchant leur reproduction.

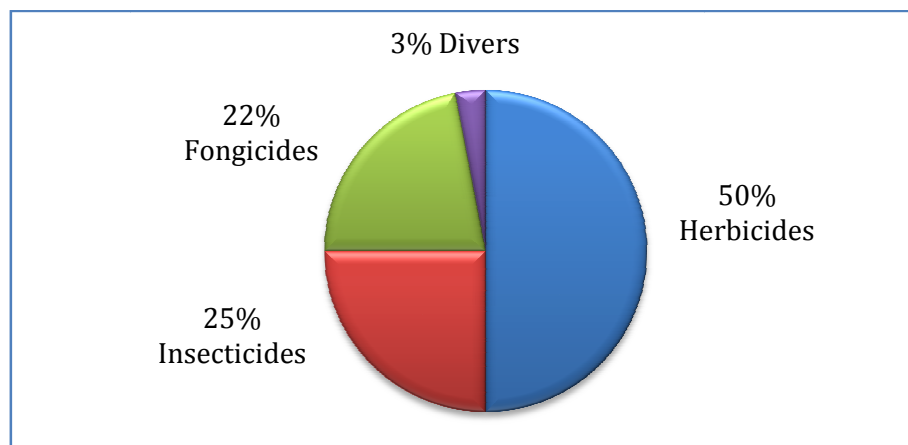


Figure 1.2: Répartition mondiale des produits phytosanitaires par catégorie de produits (d'après **UIPP**, 2004). [36].

En plus des trois grandes familles de pesticides mentionnées ci-dessus, différentes familles peuvent être citées, comme par exemple :

- les acaricides, contre les acariens,
- les némantocides, contre les vers du groupe des nématodes,
- les rodenticides, contre les rongeurs,
- les taupicides, contre les taupes,
- les molluscicides, contre les limaces et escargots. [36].

1.4.2. Classification en fonction de la nature chimique :

Ce deuxième système de classification tient compte de la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires. Les principaux groupes chimiques sont :

- les organochlorés (Lindane, DDT...);
- les organophosphorés (Dichlorvos, Malathion...);
- les carbamates (Aldicarbe, Carbaryl...);
- les pyrethrynoïdes (Fenpropanthrine, Cyperméthrine...);
- les Aryloxyacides (2,4-D, 2, 4,5-T ...);
- les urées substituées (Isoproturon...). [36].

1.5. Propriétés des pesticides:

La connaissance des propriétés et des caractéristiques des pesticides est essentielle pour élaborer un plan d'échantillonnage en vue de l'analyse des résidus. Bien qu'il soit difficile (et risqué) de généraliser, cette partie expose brièvement les caractéristiques environnementales correspondant aux différentes classes de pesticides étant donné que les composés sont très différents les uns des autres. [34] Cependant, une augmentation de la solubilité dans l'eau indique la possibilité de mouvement/lessivage majeur dans le sol. Les données de demi-vie (c.-à-d. le temps nécessaire pour que la moitié de la matière active se perde par dégradation ou par dissipation) sont des indicateurs utiles de la rémanence probable et aident à l'élaboration des programmes d'échantillonnage, notamment en ce qui concerne les échelles de temps. L'importance des métabolites et des produits de dégradation connus doit également être prise en compte. [37].

1.6. Dégradation des pesticides :

Les pesticides se dégradent progressivement sous l'effet de nombreuses réactions chimiques et microbiologiques. Au fur et à mesure de leur dégradation, certains pesticides produisent des substances intermédiaires (métabolites), dont l'activité biologique peut aussi avoir un impact sur l'environnement. La dégradation des substances est mesurée par leur demi-vie (DT50) qui désigne le temps nécessaire pour que 50 % de la masse de la substance disparaisse du sol ou de l'eau à la suite des différentes transformations. [34]

1.7. Toxicité des pesticides :

L'utilisation des pesticides et la contamination qu'ils peuvent engendrer ne sont pas sans conséquence. [33] En effet, l'exposition aux produits phytosanitaires peut provoquer deux types de dangers sur la santé de la cible : effets aigus à court terme ou des effets chroniques (Gupta, 2004) [37]. Les effets aigus sont connus sous le nom d'intoxication et leurs conséquences sont le plus souvent immédiates alors que les effets chroniques se développent sur une période plus longue et peuvent persister longtemps. Les métabolites des pesticides peuvent être plus dangereux que la matière active elle-même, c'est pourquoi une réglementation tenant compte de la durée de séjour du pesticide dans le milieu naturel s'impose. [37]

1.8. Dispersion et devenir des pesticides dans l'environnement :

Les mécanismes de dispersion (Figure 1.3) sont très nombreux et dépendent principalement de la végétation, des propriétés du sol, des conditions climatiques, et de la composition des produits épandus. [38]

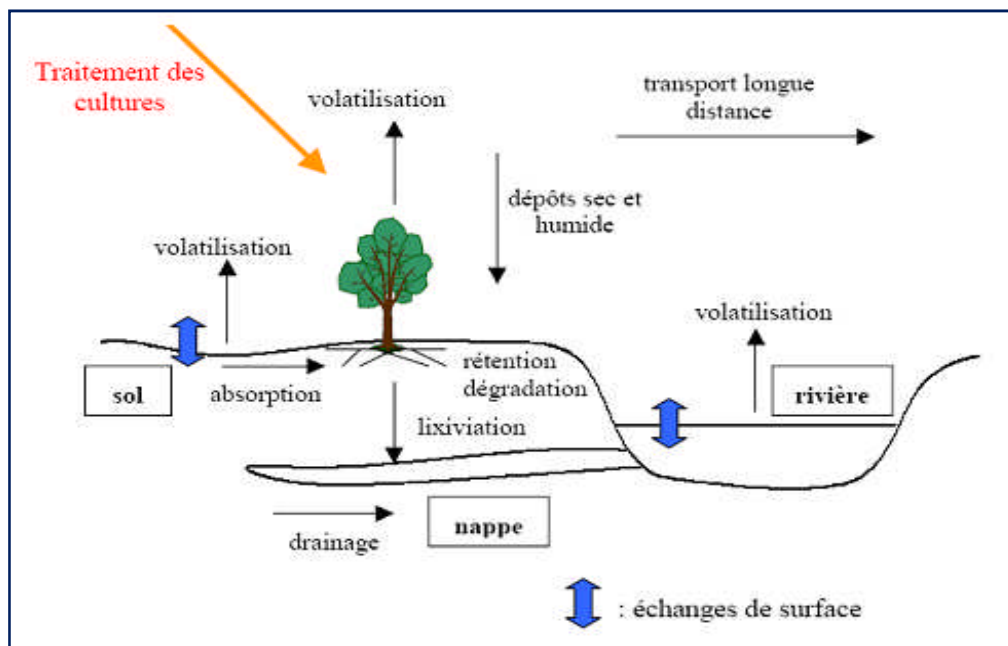


Figure 1.3: Dispersion des pesticides dans l'environnement. [38]

Ces transports en surface ou en profondeur conduisent à la contamination des eaux de surface et des nappes phréatiques, même si les quantités de pesticides mobilisées dans les processus de transfert ne concernent généralement qu'une faible fraction des quantités épandues. [39]. Les produits phytosanitaires sont ainsi soumis à plusieurs processus: La dégradation, la rétention dans le sol jusqu'à la formation de résidus liés et le transport vers d'autres compartiments de l'environnement. [40].

1.9. La bioconcentration et la bioaccumulation :

Contrairement aux effets sublétaux cités, les phénomènes de bioaccumulation de certaines substances phytosanitaires sont des réalités de terrain. Les organismes accumulent les xénobiotiques à partir de l'eau, à travers les tissus (bioconcentration), et/ou à partir de la nourriture (bioaccumulation). Outre les caractéristiques physico-chimiques de la substance, de nombreux facteurs biotiques et abiotiques influencent la bioconcentration (espèce, état physiologique, âge, densité de la population, température, concentration en matière organique de l'eau et du substrat, etc.) [41].

Tableau 1.1 : Des résultats de bioconcentration de quelques produits phytosanitaires.

[41]

Substances	Espèces	Concentration eau µg/l	Durée d'exposition
DDT	<i>Pimephales promelas</i>	0,5-2	50-100 j. 24 h
	<i>Daphnia</i>	8-50	
Heptachlore	<i>Cyprinodon variegatus</i>	6.5-21	96 h
HCH	<i>Cyprinodon variegatus</i>	42-100	4 j.
Permethrine	<i>Salmo salar</i>	1,4-12	96 h
Fenvalerate	<i>Salmo salar</i>	1	96 h
Pentachlorophénol	<i>Truite</i>	2	24 h
Fénitrothion	<i>Oryzias latipes</i>	800	10 j.
Diazinon	<i>Cyprinus carpio</i>	10	7 j.
2,4-D	<i>Lepomis macrochirus</i>	3	8 j.
2,4,5-T	<i>Lepomis</i>	3	8 j.

Il illustre en particulier l'importante gamme de variation de ce paramètre selon les types de substances considérées. L'utilisation de plantes aquatiques pourrait être une technique efficace pour éliminer les pesticides des eaux de ruissellement à moindre coût et restaurer la qualité des milieux aquatiques. [41].

Tableau 1.2 : Toxicité de quelques pesticides. [41]

Substances mg/l	Bluegill <i>Lepomis macrochirus</i>	Largemouth bass <i>Micropterus salm oides</i>	Daphnie <i>Daphnia magna</i>	Channel catfish <i>Ictalurus punctatus</i>
Organophosphoré				
Azinphos méthyl	0,022	0,0048		3,29
Fénitrothion	3,80		0,011	4,30
Malathion	0,103		0,0010	
Parathion méthyl	4,38	5,22	0,00014	5,24
Parathion éthyl	0,40	0,62		2,65
Phosmet	0,20		0,0056	
Organochloré				
DDT	0,0086	0,0015	0,0047	0,0215
Urée substituée				
Diflubenzuron	> 100		0,0160	
Amino phosphonate				
Glyphosate	5,60		3,0	
Carbamate				
Méthomyl	1,05	1,25	0,0090	0,53
Toluidine				
Trifluraline	0,058	0,075	0,56	2,2

L'introduction d'un pesticide, présentant un certain pouvoir toxique dans le milieu naturel, va entraîner, une fois pénétré dans l'organisme, soit des modifications biochimiques au niveau cellulaire qui auraient-elles mêmes des conséquences au niveau des régulations physiologiques de l'organisme ou de sa morphologie, soit des modifications comportementales. Ces effets vont entraîner par voie de conséquence des altérations des performances individuelles: mortalité (effet létal), succès de reproduction, vitesse de croissance, durée de développement, (effet subléta). Une modification de l'équilibre et de la dynamique des populations concernées s'en suivra. De nouveaux équilibres pourront se mettre en place, la structure et la dynamique des biocénoses en seront affectées pouvant entraîner des modifications du fonctionnement de l'écosystème (production et productivité primaire et secondaire (impact à long terme). [42]

1.10. Les pesticides organophosphorés :

Les pesticides organophosphorés (OPS) sont des pesticides de seconde génération dérivés de structures de gaz neurotoxiques. Les organophosphorés sont toxiques pour le système nerveux. Une intoxication légère donne des symptômes de gastro-entérite avec des étourdissements [43]. Les organophosphorés présentent une structure générale incluant un groupe P=O ou P=S, (Figure 1.4) [43]. La plupart des insecticides organophosphorés sont des organothiophosphatés et nécessitent une activation métabolique qui transforme le P=S en P=O.

B et B' : Groupements basiques (radicaux, alkyl, alkoxy, aryloxy, amido ou mercaptan)

X : Groupement acide (halogène, cyanure, thiocyanate, phénoxy,....)

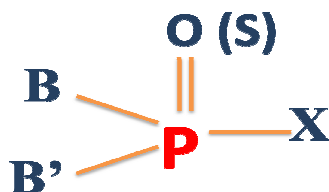


Figure 1.4 : Structure générale des organophosphorés. [43].

Ces organophosphorés sont en général, des substances peu stables dans le milieu naturel où elles sont facilement dégradées, par les micro-organismes, en métabolites qui entrent dans les grands cycles de synthèses biologiques. Par ailleurs, les composés organophosphorés sont, pour la plupart, nettement moins toxiques vis-à-vis des organismes vivants que les organochlorés [44,45]. Les insecticides organophosphorés utilisables dans la lutte culicidienne ont été l'objet d'études en laboratoire. C'est ainsi que DUBOIS a testé l'efficacité de ce composé fenitrothion sur les larves de moustiques ainsi que sa toxicité vis-à-vis de quelques animaux des biotopes à moustiques. [46] La plupart des organophosphorés pénètrent plus ou moins dans le tissu des plantes, étant semi systémiques, ou sont transportés par le système vasculaire de la plante : ils sont alors systémiques avec une toxicité aiguë élevée mais une faible rémanence. Leur faible rémanence nécessite souvent la répétition des traitements pour assurer une longue protection. [43]

On distingue :

- Organophosphorés aliphatiques : acéphate, déméton, dichlorvos, dicrotophos, diméthoate, éthion, formothion, malathion, mévinphos, monocrotophos, naled, ométhoate, phorate, phosphamidon, trichlorfon, glyphosate .

Ils sont généralement hautement toxiques et peu stables.

- Organophosphorés à cycle phényl : bromophos, chlorfenvinphos, fenitrothion, fenthion, fonofos, isofenphos, parathion, parathion éthyl, parathion méthyl, phosalone, profénofos, protiphos .

Ils sont plus stables que le groupe précédent (meilleure rémanence).

- Organophosphorés à hétérocycle : chlorpyrifos, diazinon, étrimfos, isoxation, quinalphos, méthidation, phosmet .

Un des exemples de pesticides organophosphorés est le Fenitrothion. C'est un pesticide à large spectre c'est-à-dire touchant plusieurs espèces d'insectes. Le fenitrothion entre dans la catégorie modérément toxique de la classification de l'OMS. [47] Comme précédemment, la toxicité du fenitrothion est issue d'un de ces métabolites, le 3-méthyl- 4-nitrophenol qui présente des risques de génotoxicité et de carcinogénicité.[48].

1.10.1. Fénitrothion :

Noms commerciaux : Novathion, Sumithion.

Formule chimique: Phenyl organothiophosphatés ; C₉ H₁₂ NO₅ PS [49].

Le fenitrothion ou 6 thiophosphate de 0, 0-di- méthyl et de 0-(méthyl-3 nitro-4phényl). [43] Sa structure chimique est présentée (Figure1.5) [43].

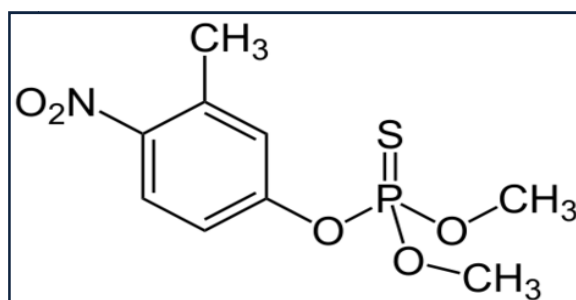
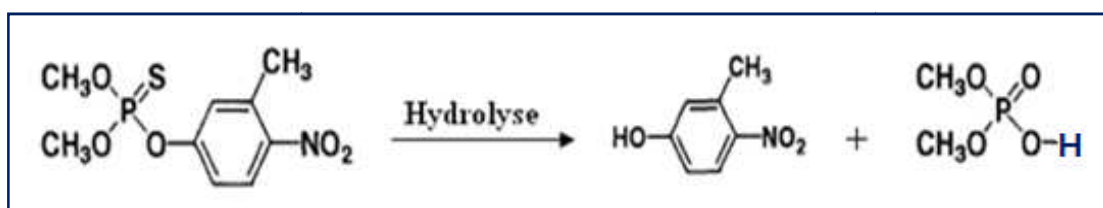


Figure 1.5 : Structure chimique de l'Insecticide Fenitrothion. [43].

Les pesticides organophosphorés ont une rémanence assez limitée dans l'environnement et leurs résidus, chez les espèces vivantes, ne sont généralement pas détectés ou détectés uniquement sous forme de métabolites dans certains cas. Leur solubilité dans l'eau est variable, mais elle est plus élevée que celle des pesticides organochlorés; leurs résidus sont généralement rapidement dégradés dans l'eau (hydrolyse). Les produits de dégradation du fénitrothion sont l'aminonitrophénol et le diméthyl aminofenitrothion. [48]



Les insecticides organophosphorés représentent l'une des classes les plus largement utilisés des pesticides ayant un potentiel élevé d'exposition de l'homme dans les zones rurales et résidentielles des environnements. [49]

Le fénitrothion est d'une classe de substances chimiquement similaires appelés pesticides organophosphorés. Ils sont chimiquement semblables à des composés mis au point comme «gaz neurotoxique» développé pour être utilisé

comme des armes chimiques avant et pendant la seconde guerre mondiale, et ont un mode d'action similaire. Le fénitrothion est décomposé dans l'environnement après 4 à 20 jours. Il est rapidement métabolisé et excrété par les mammifères. Les principaux métabolites sont le diméthylfénitrooxon et le 3-méthyl-4-nitrophénol. Il est métabolisé par les plantes pour donner des produits (et des sous produits de décomposition) similaires, avec une demi-vie du composé d'origine d'environ 4 jours. [48]

Le fénitrothion est également efficace contre les insectes domestiques et tous les insectes nuisibles énumérés par l'Organisation Mondiale de la Santé. Son efficacité en tant qu'agent de lutte contre les vecteurs du paludisme est confirmée par l'Organisation mondiale de la Santé. [50] Il a une faible mobilité dans le sol et il se biodégrade, rapidement, en milieu anaérobie par rapport au milieu aérobie. Sa demi-vie dans le sol dépend beaucoup de la nature de ce dernier. Son hydrolyse est fonction du pH. Plus ce dernier est basique, mieux l'hydrolyse se fait. Il présente la capacité de s'adsorber sur les particules en suspension dans l'eau [49,51]. Utilisé sur : agrume, olivier, céréale, fleurs, pommes, poires, prunes, chiens. Contre: aleurode, carpocapse, Capnode, Punaises, Criquet, acarien, moustiques, puces. Par ailleurs, le mélange Fénitrothion-Carbaryl induit un taux de mortalité de 100% au bout de 8 heures pour une dose maximale de 16 g pour 50 g de maïs. [52,53]

1.10.2. Comportement dans l'environnement:

La mobilité du fénitrothion dans le sol est en moyenne à faible. La biodégradation du fénitrothion dans le sol suit un processus de co-métabolisme. La demi-vie de biodégradation du fénitrothion varie de 4,4 à 53,7 jours dans les sols non inondés et de 3,9 à 10,9 jours dans les sols inondés. Lorsque le pH est neutre, l'hydrolyse abiotique du fénitrothion dans le sol n'est pas importante. Elle est néanmoins plus marquée en milieu alcalin. Une demi-vie de 4,4 ans a été estimée dans le cas d'échantillons de sol caractérisés par un pH de 7,2. À la surface du sol, le fénitrothion est sujet à la photolyse, processus dont le déroulement peut être très rapide. En cas de photolyse, la demi-vie a été estimée à 1 jour. En cas de volatilisation, une demi-vie supérieure à 12 jours a

été observée à titre de comparaison. En cas de volatilisation la demi-vie maximale en milieu acide a été estimée à 180 jours. Dans les lacs et les ruisseaux, cette demi-vie a été estimée respectivement à 21 et 5 jours. [54]

1.10.3. Les produits de dégradation:

Il est très important de connaître les produits de dégradation formés par les pesticides une fois intégrés dans l'environnement pour évaluer leur toxicité pour la santé de l'homme et de l'environnement [55]. En général les produits de dégradation sont moins toxiques que leurs composés parents [56,57] sauf pour certaines exceptions [58,59]. Cela s'explique de plusieurs façons: le produit dégradé peut représenter la partie active du composé parent et être ainsi plus toxique pour l'environnement ou alors le produit de dégradation s'accumule en quantité plus importantes dans l'environnement ce qui le rend plus toxique que son composé parent. L'évaluation de la toxicité des produits de dégradation de pesticides est récente. Il n'existe que peu d'études et de données sur les produits de dégradation des pesticides, il est donc difficile de tirer des généralités sur leur toxicité [60]. L'analyse des produits de dégradation est rendue difficile par leurs faibles concentrations dans le milieu et l'analyse de composés inconnus n'est pas aisée.

1.10.4. Mécanismes de photolyse du fenitrothion:

Un schéma réactionnel est proposé par : Rika KODAKA, Terumi SUGANO, Toshiyuki KATAGI et Yoshiyuki TAKIMOTO. (2002). [61]

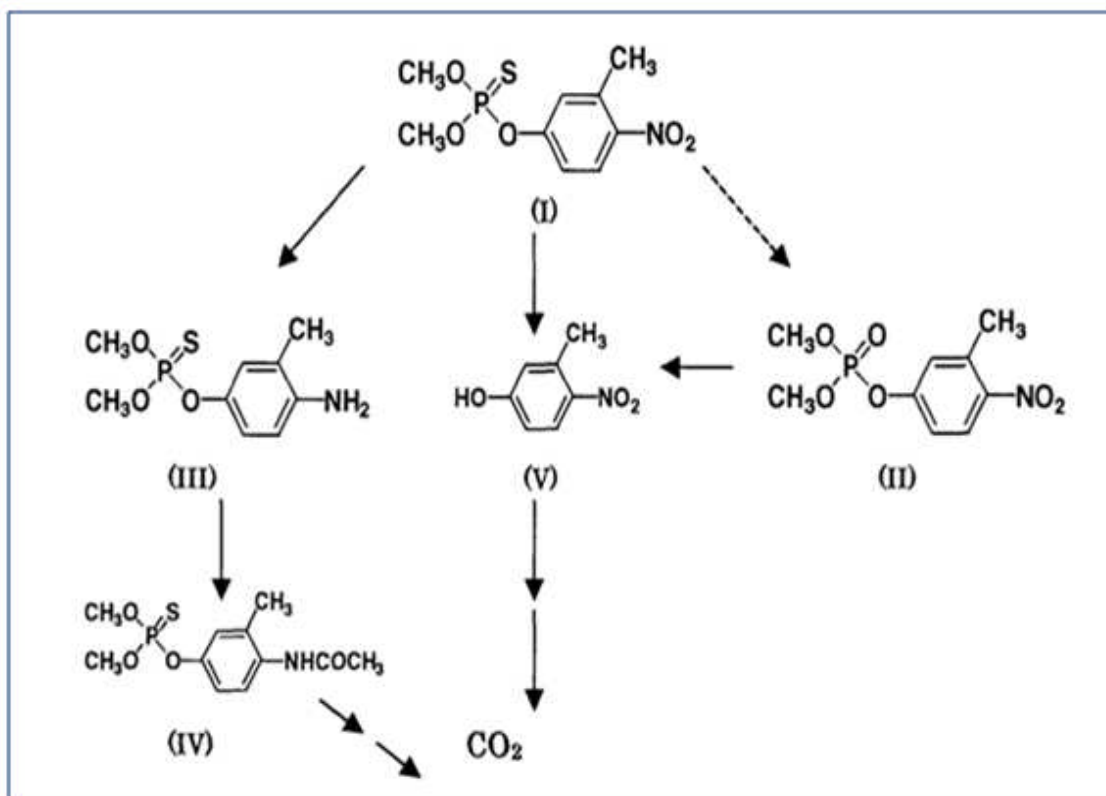


Figure 1.6: Proposition d'un Mécanisme de dégradation du Fenitrothion par photolyse (Eau –sédiment) système. [61].

1.10.5. Propriétés physico-chimiques du fénitrothion:

Tableau 1. 3 : Propriétés physico-chimiques du Fenitrothion. [54]

Paramètres	Valeurs
Poids moléculaire (g/mol).	277,25
Point de fusion (°C).	0,3
Pression de vapeur (mPa).	0,15
Densité.	1,32 à 20 degrés C.
Point d'ébullition.	109 degrés C à 0,13 mbar
Solubilité (mg/l).	30
Coefficient de partition.	2380

Sa demi-vie dans le sol est de 12 à 28 jours, moins dans des conditions de submersion (4 à 20 jours). La plupart des organophosphorés pénètrent plus ou moins dans le tissu des plantes, ou sont transportés par le système vasculaire de la plante. Ils sont généralement hautement toxiques et peu stables. [54].

Le fenitrothion est une molécule peu persistante dans le sol et l'eau. La toxicité aiguë et chronique du fenitrothion pour les oiseaux est relativement élevée. Le fenitrothion présente une faible toxicité aiguë pour les mammifères. IL présente une toxicité élevée vis-à-vis des invertébrés aquatiques, de l'ordre du µg/l tandis que sa toxicité pour les poissons sans être faible est moins importante, de l'ordre de la centaine de µg/l. [42]

De très nombreuses données d'écotoxicité de laboratoire sont disponibles pour cette molécule, celles-ci mettent en évidence des toxicités aiguë et chronique très importantes pour cette molécule vis-à-vis des organismes aquatiques tant vertébrés qu'invertébrés et absence de toxicité vis-à-vis du phytoplancton. Toutes ces études confirment également la faible persistance de la molécule dans le milieu. [42] La DL50 par voie orale aiguë pour les rats varie entre 250-800 mg / kg; 715-870 mg / kg pour les souris et 500 mg / kg pour les porcs. La DL50 par voie cutanée aiguë pour le rat: 890 mg / kg et > 3000 mg / kg pour les souris. La CL 50 aiguë par inhalation chez le rat a été signalée égale à 5,0 mg / l. La toxicité aiguë par voie orale pour les chats est de 142 mg / kg. La DL50 par voie orale pour les poulets est rapporté que 28 mg / kg. Le fenitrothion a été jugée hautement toxique pour les hautes terres gibier à plumes et légèrement toxique pour les oiseaux d'eau (valeurs de toxicité aiguës par voie orale à la caille et le canard colvert a été établie à 23,6 mg / kg et 1190 mg / kg, respectivement). La CL50 pour les faisans a été de 450 à 500 ppm dans l'alimentation de la semaine. [46]

Le temps pour atteindre les plus hauts niveaux de l'absorption et la mesure de rétention de résidus organophosphorés par le poisson est directement lié à la mesure de la persistance d'un composé dans l'eau. Le fenitrothion a persisté plus de 4 semaines chez les poissons. Il est considérée

comme peu toxique pour les poissons. Les heures CL50-96 était de 1,7 ppm pour l'omble de fontaine; modérément toxique pour les poissons d'eau froide et eau chaude. L'heure CL50-48 pour la carpe varie entre 2,0 mg / l et 4,1 mg / l. Dans une étude sur la toxicité aiguë du fenitrothion pour la truite arc, les embryons ont été jugés les moins sensibles. La toxicité du fenitrothion pour la truite arc augmente avec la température. Il ya des informations suffisantes pour caractériser le fénitrothion comme très toxiques pour les abeilles (valeur de toxicité aiguë = 0,383 microgrammes / abeille) lorsque les abeilles sont exposées au traitement direct ou aux résidus sur le feuillage séché. Les niveaux d'exposition déterminés lors de ces travaux conduisent à des risques associés à l'utilisation du fenitrothion présente des risques très préoccupants pour le compartiment aquatique [46].

Le fenitrothion est solubles dans l'eau. Le fenitrothion se dégrade très rapidement dans le sol, tandis que dans l'eau la dégradation est modérée et plus lente dans les systèmes eau/sédiments. Il présente une affinité plus modérée pour la matière organique. La substance présente un potentiel de bioaccumulation élevé avec un risque potentiel de bioaccumulation dans les chaînes trophiques. [46].

Le fénitrothion possède une toxicité élevée pour les organismes aquatiques.[46] Chez les larves du trichoptère *Brachycentrus numerosus* , il faut, à 5 °C, une dose de 20 ppm de l'insecticide organophosphoré fénitrothion pour obtenir une mortalité de 50% en 72 h, et une dose de 11 ppm pour obtenir cette mortalité en 96 h. Cependant, après 24 h d'exposition à une concentration de 0.076 ppm de fénitrothion, la mortalité pendant les 30 jours suivant est de 66%, et à une concentration de 0,130 ppm, la mortalité est de 100%. Les larves qui survivent à l'exposition de 0.076 ppm semblent pouvoir se rétablir complètement en moins de 19 jours. Le seuil de concentration entraînant l'abandon de l'étui et la mort en 24 h se situe entre 0.055 et 0.076 ppm. [42]

L'introduction des pesticides organiques de synthèse en agriculture conduit à une dispersion de ces composés dans l'environnement et en particulier dans les écosystèmes limniques tant lotiques que lenticques. Parvenus dans ces écosystèmes, les pesticides réagissent avec leurs divers constituants qui sont l'eau, les sédiments, les particules en suspension, et les organismes vivants tant végétaux qu'animaux. [54]. L'extrême complexité des relations existantes entre les pesticides et les divers constituants biotiques et abiotiques des écosystèmes aquatiques nous a conduits à étudier le comportement et le devenir de cette molécule, un organophosphoré le Fenitrothion, dans des conditions contrôlées de laboratoire. [47,61].

CHAPITRE 02

LES LENTILLES D'EAU, PHYTOTOXICITE ET PHYTOREMEDIATION

2.1. Introduction :

L'utilisation de plantes coûte moins cher que l'utilisation de toute autre forme d'organismes pour l'épuration de certaines eaux, car, les plantes captent l'énergie solaire pour synthétiser les protéines et autres structures nécessaires à l'assainissement. Cependant, la phytoremédiation utilisant ces plantes naturelles a des limites. Les plantes peuvent souffrir de symptômes de toxicité, et il faut longtemps pour que les plantes atteignent une taille pour extraire efficacement les polluants. Par conséquent, il serait bénéfique d'améliorer la capacité de l'usine pour la phytoremédiation. [44, 55]

L'objectif recherché est de montrer l'efficacité ainsi que les limites de ces techniques en vue de leur utilisation dans un procédé global de traitement des eaux contaminées essentiellement par les pesticides.

2.2. Dépollution des eaux :

Les pesticides représentent une menace réelle pour les ressources en eau. Cette pollution affecte en priorité les eaux de surface, où l'on observe une présence de pesticides sur l'ensemble des cours d'eau. La dépollution d'eaux usées urbaines, industrielles et agricoles peut être réalisée par différents procédés qui sont actuellement bien maîtrisés à l'échelle du laboratoire et appliqués à grande échelle incluant les traitements physico-chimiques et biologiques. [57]

2.3. Les moyens de lutte contre cette pollution :

Face à cette pollution des eaux par les pesticides, les techniques de décontamination sont en pleine explosion. Généralement, les pollutions

d'origine urbaine sont traitées en station d'épuration. Mais la majeure partie de celles-ci ne propose qu'un traitement primaire de type mécanique (dégrillage, dessablage, déshuilage-dégraissage) suivi d'un traitement secondaire (biologique). Pour réduire ces pollutions additionnelles, de nouvelles stations d'épuration commencent à s'implanter en proposant des traitements tertiaires de l'azote voir quaternaires en intégrant ozonation, filtration sur charbon actif et/ou ultrafiltration afin de traiter les micropolluants organiques. Ces techniques d'épuration sont de type physico-chimique. Elles entraînent un surcoût important pour une efficacité parfois moyenne pour les pesticides (Miretzky *et al.*, 2004), tout en amenant une pollution secondaire (Oswald, 1988 ; Yu, 2002). [1]

Dans le cas des pollutions d'origines agricoles, l'emploi de techniques d'épuration de type physico-chimique engendreraient des coûts importants et se révéleraient difficiles à mettre en place. C'est pourquoi, il est important de réduire la charge polluante en amont, avant que cette dernière n'arrive au niveau des cours d'eau. Pour cela, des techniques d'épuration de type naturel voient le jour. [1]

2.4. Procédés biologiques :

Les procédés d'épuration par voie biologique sont communément utilisés pour le traitement des eaux résiduaires urbaines. Ces procédés ne sont pas toujours applicables sur les effluents industriels en raison des fortes concentrations de polluants, de la toxicité ou de la très faible biodégradabilité. [57] Les traitements biologiques étant considérés comme une voie économiquement et écologiquement intéressante, mais peu exploitée. [1]

2.5. Phytoremédiation :

La phytoremédiation est une technologie de traitement employant des plantes dans le but d'éliminer les contaminants contenus dans les sols et les eaux souterraines. Le principe de la phytoremédiation consiste en la production par les racines des plantes de composés capables de favoriser le développement de microorganismes responsables de la biodégradation de

contaminants, c'est la rhizodégradation. En effet, les racines des plantes en croissance permettent une aération des sols de par les interstices qu'ils y créent. [59] La phytoremédiation a été proposée comme un moyen peu coûteux, facile à enlever de manière écologiquement polluante dans les sols contaminés [1].

Les plantes qui sont naturellement hyper-accumulatrices des substances toxiques [60,61] sont utilisées aux fins d'assainissement de l'environnement pollué. Du fait des limites d'utilisation de la phytoremédiation, il serait bénéfique d'améliorer la capacité de l'usine pour la phytoremédiation. Le génie génétique constitue un excellent moyen d'atteindre cet objectif. Au cours de l'évolution, les plantes ont développé des mécanismes complexes pour absorber les substances organiques ou minérales du sol, de l'eau et de l'air à travers leurs racines et leurs feuilles, lesquelles sont ensuite transportées dans d'autres parties de la plante pour être utilisées, transformées, dégradées ou stockées (Cunningham *et al.*, 1996 ; Polessp, 2005), ce qui représente les mécanismes de la phytoremédiation. [1]

2.5.1. Principe de la technique de phytoremédiation :

Connue sous le nom de phytoremédiation « phyto » = plante et « remedium » = rétablissement de l'équilibre, remédiation, la phytoremédiation est définie comme l'utilisation de plantes pour extraire ou transformer les polluants organiques et aussi inorganiques (plus particulièrement les métaux lourds) (Salt *et al.* 1998). Les aspects technologiques d'efficacité, de coût du traitement et les aspects économiques sont abordés. [62] La phytoremédiation étant une technique en émergence, les coûts réels ne sont pas encore généralisables mais les coûts estimés sont 50 à 80 % plus faibles qu'avec les méthodes physico-chimiques. Le marché de la phytoremédiation est en progression. [63]

Malgré leur développement récent, ces méthodes sont variées et des résultats encourageants ont déjà été obtenus pour des polluants divers.

2.6. Plantes aquatiques et phytoremédiation:

Actuellement, plus de 800 espèces végétales susceptibles d'être actives par rapport à différents composés chimiques ont été référencées et reportées dans deux bases de données canadiennes. La phytoremédiation s'effectue de façon naturelle par les plantes survivant dans l'eau et les sols contaminés. [22]. Les eaux polluées, qui peuvent être traitées par phytoremédiation, comprennent, les eaux usées et les eaux usées municipales (nutriments, métaux), les eaux de ruissellement agricoles/eaux de drainage (engrais, nutriments, métaux, arsenic, sélénium, bore, pesticides organiques), les eaux usées industrielles (métaux, sélénium), des lixiviats de décharge, les eaux de drainage (métaux), les eaux souterraines (organiques, métaux) [64-12].

Des travaux de recherche, sur la toxicité de l'arsenic vis-à-vis de *L. gibba*, ont mis en évidence des taux de bioaccumulation d'arsenic élevé correspondant à une réduction moyenne de sa concentration de 40%. [65]. Par ailleurs, cette espèce a présenté une forte tolérance à l'arsenic dans de la gamme comprise entre 10 et 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. [66]

D'après Robinson et *al*, [67], les plantes tolérant des concentrations élevées d'éléments toxiques accumulent significativement les éléments non essentiels. Des études ont montré que chez *L. gibba* une tolérance nettement supérieure aux effets toxiques du cuivre et du chrome. [21]. Cependant, *L. gibba* a été plus indiquée pour des applications en phytoremédiation, vu sa tolérance et sa productivité en biomasse. Les potentialités de cette espèce pour des applications de ce type de traitement se justifient par des taux d'accumulation élevés, spécialement pour le chrome où ils dépassent largement les 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$ de poids sec. En effet, les concentrations des plantes en chrome obtenues dans ce travail atteignent 1710 $\mu\text{g g}^{-1}$ chez *L. gibba*. Ces performances montrent un potentiel fort intéressant en comparaison à d'autres macrophytes comme la jacinthe d'eau par exemple [68].

2.7. Les différents types de remédiation :

Plusieurs mécanismes permettent aux plantes l'élimination des polluants par phytoremédiation. (Schnoor, 1997 ; Schröder et *al.*, 2002 ; Susurla et *al.*, 2002; Pilon-Smits, 2005 ; Campos et *al.*, 2008): [1]

- **La phytoextraction ou phytoaccumulation** utilise des plantes qui absorbent et concentrent dans leurs parties récoltables (feuilles, tiges, racines) les polluants provenant des sols ou des eaux. On utilise ce terme souvent dans le cas des métaux lourds et des composés organiques, avec l'utilisation de plantes accumulatrices et/ou hyper accumulatrices qui sont capables de tolérer et d'accumuler ces polluants.
- **La phytostabilisation** réduit la mobilité des contaminants. Les plantes adsorbent les polluants du sol, de l'eau ou de l'air, les retenant localement et réduisant leur biodisponibilité. C'est une méthode efficace pour empêcher la dispersion des polluants dans les eaux de surface et/ou souterraines.
- **La phytotransformation ou phytodégradation** utilise les propriétés de certaines plantes à produire des enzymes qui catalysent la dégradation des substances absorbées ou adsorbées, celles-ci sont alors transformées en substances moins toxiques ou non toxiques par la métabolisation des contaminants dans les tissus des plantes ou par les organismes de la rhizosphère maintenue par la plante (on parle alors de rhizodégradation, de phytostimulation ou encore de bioremédiation).
- **La rhizofiltration** permet la dépollution et la restauration des eaux de surface et souterraines. Les contaminants sont absorbés ou adsorbés par les racines des plantes en milieu humide. Lors de grande capacité d'absorption par ces dernières on parle de « phytopumping », on utilise le plus souvent des arbres (comme le saule ou le peuplier) pour assécher les terrains et extraire les polluants du sol.
- **La phytovolatilisation** est le processus par lequel les plantes transforment les contaminants du sol ou des eaux polluées en éléments volatiles et les relâchent dans l'atmosphère via leurs feuilles. [1].

2.8. Le potentiel épuratoire des plantes aquatiques et évaluation de la capacité de l'absorption du phosphore, nitrates et nitrites :

La capacité des plantes à diminuer la pollution des matières organiques et des éléments nutritifs de 50 à plus de 80 % est maintenant bien reconnue (Ran *et al.*, 2004). Elles ont également une forte capacité de prélèvement des métaux avec des rendements élevés qui ont été décrits dans la littérature scientifique: le plomb (76 %), le nickel (82 %), le fer (79 %), le zinc (98 %), le manganèse (95 %), le chrome (97 %), le mercure et le cuivre (90 %) (Axtell *et al.*, 2003 ; Maury-Brachet *et al.*, 1990 ; Miretzky *et al.*, 2004). Cependant, si on connaît la capacité des plantes à épurer les eaux contaminées par la matière organique, les éléments nutritifs et les métaux, nos connaissances seraient limitées sur leur capacité à éliminer les composés organiques même si elles semblent en avoir le potentiel (Larsen *et al.*, 2005 ; Dhir *et al.*, 2009). [1,69,70].

Les végétaux aquatiques ont montré leur efficacité dans l'élimination de polluants organiques comme les phénols, les composés organochlorés et organophosphorés, les chlorobenzènes, et même les pesticides Dhir *et al.*, 2009). Concernant ces derniers, les rendements d'épuration à l'aide de plantes aquatiques sont variables, de 20 à 95 %, selon les propriétés physico-chimiques des molécules et le type de plantes (Rice *et al.*, 1997 ; Gao *et al.*, 2000 ; Mitsou *et al.*, 2006 ; Tront et Saunders, 2006 ; De Carvalho *et al.*, 2007 ; Cai *et al.*, 2007).[1]. Les plantes aquatiques paraissent donc avoir un fort potentiel dans le processus de phytoremédiation des pesticides. [71]

L'azote et le phosphore, sont deux éléments indispensables aux plantes et responsables du phénomène de l'eutrophisation. Cette propriété d'assimilation de composés azotés et phosphatés par les plantes et les possibilités de récupération de la biomasse sont parmi les critères les plus importants pour la sélection des espèces aquatiques pouvant être exploitées en phytoremédiation. L'utilisation des plantes aquatiques telles que la lentille d'eau, peut être à la fois un outil très performant de diagnostic de ce genre de pollution et un moyen pour assainir le système aquatique. Cette technique de

phytoremédiation est d'un intérêt considérable en tant qu'une branche de l'écotechnologie. [22]

Comme l'azote, le phosphore est un constituant essentiel de la matière organique et est un nutriment indispensable pour les organismes vivants. Cependant il doit être considéré comme un polluant lorsqu'il est présent à de fortes concentrations dans l'environnement. Les rejets de phosphore dans les écosystèmes aquatiques constituent l'un des plus sérieux problèmes environnementaux car ils contribuent à accélérer l'eutrophisation de ces milieux. La pollution par les nitrates, est également à l'origine de proliférations végétales excessives dans les milieux aquatiques. [69].

Dans les eaux douces, en particulier une forte concentration en nitrites indique une pollution d'origine organique. Les nitrates sont utilisés comme indicateur de pollution. Ils jouent le rôle de fertilisant pour les plantes qui assimilent l'azote sous la forme NO_3^- . Associés aux phosphates, les nitrates favorisent la croissance parfois exagérée de la flore aquatique, pouvant ainsi entraîner une eutrophisation des fleuves et des lacs. Nitrates, nitrites et phosphates sont les éléments nutritifs des algues perturbant indirectement la présence d'oxygène qui est consommée par ces derniers. Les nitrites par leur forme réduite sont plus dangereux que les nitrates. [69,72]

Comme nous l'avons évoqué, les plantes sélectionnées en vue d'une utilisation en phytoremédiation doivent, présenter un bon compromis des qualités suivantes : (Chaudhry *et al.*, 2002): [1]

- être hypertolérante aux concentrations en polluants.
- être hyperaccumulatrice.
- avoir un système foliaire et racinaire développé.
- avoir une activité photosynthétique intense.
- permettre un transport et un stockage à taux élevé.
- permettre une extraction rapide.

- être dotée de mécanismes internes pour métaboliser des polluants.
- être adaptable au climat local.
- avoir une certaine résistance aux insectes et aux maladies.
- permettre une facilité de gestion.

Nous avons retenus pour cette étude une plante aquatique : *Lemna gibba*.

2.9. Les lentilles d'eau :

Les lentilles d'eau, « lenticules », sont des plantes aquatiques flottantes, forment souvent une couche verte à la surface des eaux. Les Lemna montrent une aire de distribution géographique très étendue puisqu'on les retrouve sur tout le globe du fait de leur capacité de s'adapter à une très large gamme de conditions trophiques [73, 74,75]. Elles sont trouvées aux cinq continents. Les milieux accueillant sont variés. Il s'agit notamment de lacs, d'étangs, de marais, de lagunes. Ce sont des plantes angiospermes qui appartiennent à la famille des Lemnacées et notamment aux genres : *Lemna* (*L. minor* ; *L. gibba* et *L. Trisulca*) ; *Spirodela* (*Spirodela polyrhiza*) et *Wolffia* (*Wolffia arrhiza*). [74].

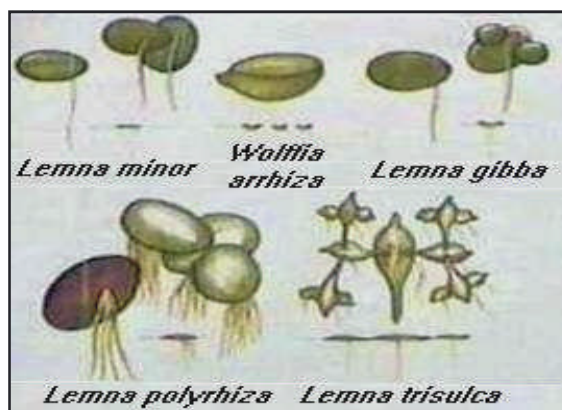


Figure 2.1: Les diverses espèces de Lemnacée. [74].

Elles se développent aux températures de l'eau entre 6 et 33°C, ils ont des dispositifs structuraux simplifiés. Une feuille de lenticule est plate et ovoïde encore appelée fronde. Beaucoup d'espèces de lentilles ont des racines qui fonctionnent comme un organe de stabilité et qui tendent à se rallonger lorsque des aliments minéraux dans l'eau sont épuisés. [73].

La lentille d'eau douce ou « lentille bossue » ou encore « lentille d'eau gibbeuse » est une plante se propageant principalement par voie végétative ou par bourgeonnement des petites feuilles (frondes), ovales et arrondies (2 à 5mm de longueur), de couleur verte à brun-rougeâtre, réunies par 2,3 ou 4 convexes au-dessous (comme gonflées). Son habitat est constitué des étangs d'eaux douce et marais. Elle est rencontrée souvent associée à d'autres espèces de lentilles. [75]

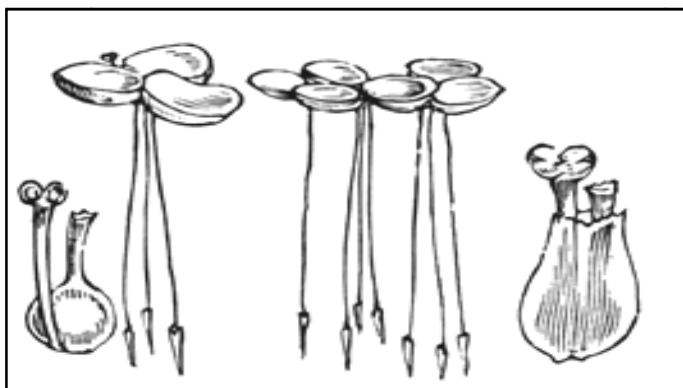


Figure 2.2 : La plante aquatique *Lemna gibba*. [75].

Dans certains conditions, en particulier en hiver, et au printemps les frondes de *L. gibba* ne développent pas de gibbosité importantes à la face inférieure et restent plates, elles peuvent être confondues avec *L. minor*. Les lentilles d'eau sont des plantes fragiles et risquent d'être endommagées par les doigts, pinces et autres instruments. [17]



Figure 2.3 : Les frondes de La plante aquatique *Lemna gibba*.

Les lentilles d'eau sont des hydrophytes flottants présents dans de nombreux milieux aquatiques des zones tempérées, essentiellement dans des eaux calmes, qui forment des colonies de 2 à 4 frondes au minimum, de taille réduite (2 à 4 mm). Les frondes sont reliées entre elles par un pétiole ou sont

libres. Chacune détient une racine unique filiforme pouvant atteindre 10 centimètres de long, leur taille dépendant du degré de trophie du milieu. [76]

Les lentilles d'eau sont des espèces de petites plantes aquatiques flottantes trouve dans le monde et souvent de plus en plus épais, comme les tapis, couverture sur fixes ou lents, riches en éléments nutritifs ou d'eau saumâtre des eaux douces. [73]



Figure 2.4 : Les Lentilles d'eau. [73].

Les lentilles d'eau survit de pH 5 à 9, mais pousse le mieux sur la plage de pH 6,5 à 7,5 Le test « Lemna » fait l'objet de plusieurs normes qui codifient les conditions de culture, la durée des tests et les paramètres d'évaluation de la toxicité [74;77]. D'une manière générale, la croissance de la lentille d'eau est contrôlée par la température et la lumière du soleil plus de la concentration des nutriments dans l'eau. A haute température, les lentilles d'eau peuvent se développer rapidement jusqu'à des traces de P et N des éléments nutritifs dans l'eau. [73]

L. gibba est une espèce relativement thermophile, elle vit dans les eaux stagnantes ou faiblement courantes. Aussi, elle est connue pour sa tolérance importante aux sels et à la pollution des eaux. [20] Cet hydrophile libre qui flotte à racines plongeant dans l'eau est confiné aux eaux eutrophiques à pH neutre ou basique. Cette lentille a été localisée dans plusieurs régions en Algérie : à l'est au niveau du lac Tanga situé à El Kala (Wilaya de Annaba) ; Jardin d'essai (Alger) ; Oueds de Chiffa et de Béni Salah (Wilaya de Blida) ; à l'ouest, aux wilaya de Tiaret et Tlemcen.



Figure 2.5: *Lemna gibba* dans la rivière Béni-Salah (Blida).

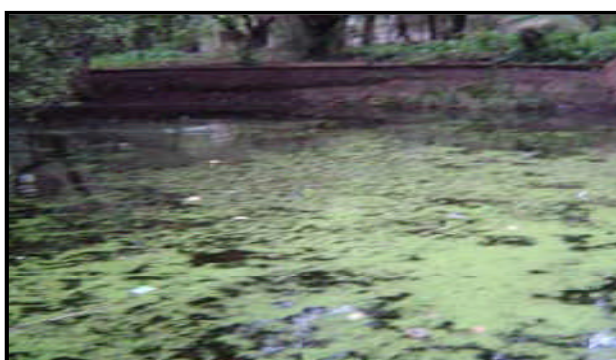


Figure 2.6: Lemnacées (Jardin d'essais, Alger).

Une des caractéristiques de la famille des Lemnacées est d'avoir une reproduction végétative très rapide. [75] Chaque fronde mère peut produire, par bourgeonnement successif latéral, 10 à 20 frondes. Il se multiplie très rapidement et de manière végétative, les frondes mères donnant naissance à des frondes filles qui arrivées à maturité se détachent des frondes mères pour donner de nouvelles colonies. Cet organisme est souvent utilisé pour les études écotoxicologiques et dans des tests normalisés [76,77].

La lentille d'eau est bien connue pour ses propriétés de bioconcentration de métaux [78, 79, 80,81]. Par contre, peu d'informations sont disponibles sur sa capacité à stocker les pesticides [82, 83, 84,85 ,86].

Les lentilles d'eau sont des espèces de petites plantes aquatiques flottantes qui se trouve un peu partout dans le monde et se trouve souvent de

plus en plus épais, comme les tapis, couverture sur fixes ou lents, riches en éléments nutritifs ou d'eau saumâtre des eaux douces. [73] Dans ce cadre, il est intéressant de noter les différents symptômes qui reflètent l'état général des lentilles comme les chloroses (perte de pigment), les nécroses, le nombre des colonies, la perte des racines, la perte de flottabilité ou encore la non séparation des frondes filles [77].

2.10. Etude du stress oxydant:

2.10.1. Le système antioxydant cellulaire:

L'origine du stress oxydant chez les organismes aérobies provient de la consommation intracellulaire de la molécule d'oxygène qui est essentielle pour de nombreuses fonctions physiologiques mais qui génère dans le même temps la formation d'espèces réactives de l'oxygène ou « reactive Oxygen species. » (ROS) qui sont potentiellement toxiques pour la cellule [87,88].

Le terme d'espèces réactive de l'oxygène (communément appelées ROS en anglais) inclut les différentes formes actives de l'oxygène (comme le radical hydroxyle (OH^\bullet) ou l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$)) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ainsi que les espèces radicalaires qui peuvent en être les initiateurs. La réactivité des ROS, peut être à l'origine d'effets biologiques néfastes. Toutefois, la formation d'espèces réactives ne s'accompagne pas systématiquement de toxicité. [89,90].

Par ailleurs, les polluants chimiques sont d'importants producteurs de ROS. En effet, les xénobiotiques connus pour leurs propriétés redox comme les quinones, les métaux de transition, les colorants diazoïques, les herbicides bipyridyles et les composés aromatiques nitrés induisent la formation de radicaux superoxydes. [87].

Les plantes aquatiques jouent un rôle clé dans le devenir des xénobiotiques récalcitrants dans les systèmes naturels et artificiels. Assimilation des xénobiotiques peut être rapide, et les plantes peuvent servir comme

d'importantes sources et des puits des xénobiotiques dans les milieux naturels. [90].

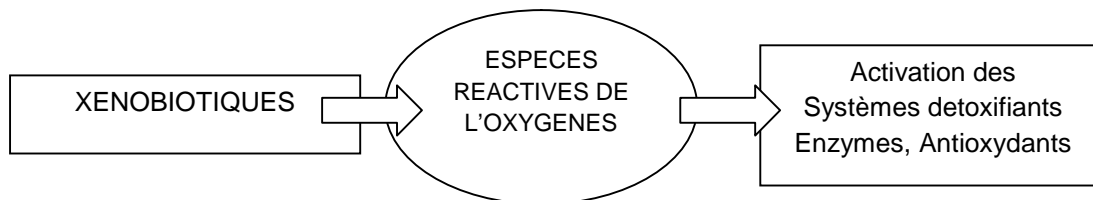


Figure 2.7: Schéma des dommages provoqués par les espèces réactives de l'oxygène sur les macromolécules. [88].

2.10.2. Les principales enzymes antioxydantes:

Parmi les différentes molécules antioxydantes, les cellules végétales possèdent de nombreuses voies de dégradation enzymatique des ERO. Certaines enzymes n'utilisent pas de co-substrat pour réduire les ERO. Au contraire, d'autres utilisent plusieurs co-substrats dont certains antioxydants [88,90].

2.10.2.1. Les catalases (CAT):

Les catalases sont des enzymes majoritairement peroxysomales catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (Arora *et al.*). Elles sont formées de quatre chaînes polypeptidiques d'environ 500 acides aminés, comportant chacune un groupe hémique comprenant un atome de fer. Bien qu'elle ait été longtemps considérée comme une des enzymes antioxydantes les plus importantes, il semble désormais que son importance dans la détoxification de l' H_2O_2 soit réduite. (Arora *et al.* ; Blokhina *et al.* ; Foyer and Noctor. ; Halliwell. ; Pitzschke *et al.*). [90]



Les ERO participent également à des processus physiologiques comme la fermeture des stomates (Pei *et al.*), ou encore la régulation des canaux calciques et potassiques (Demidchik *et al.*). Les organismes végétaux ne contiennent pas de systèmes immunitaires, c'est-à-dire des cellules spécialisées dans la lutte contre les divers microorganismes pathogènes. Chaque cellule végétale est capable de se défendre par ses propres moyens contre ces microorganismes. Cette réponse cellulaire est l'aspect le plus connu du rôle des ERO chez les plantes. [90,91]

2.11. Toxicité et tolérance :

Le premier effet des pesticides observable chez les végétaux est une inhibition de la croissance. Celle-ci s'accompagne très souvent par de nombreux autres indices de dysfonctionnement: chlorose foliaire, importantes lésions nécrotiques, jaunissement progressif, repliement ou dessèchement du feuillage... A l'heure actuelle, les bases moléculaires de ces perturbations sont encore mal connues, mais on admet généralement qu'elles résultent d'un stress oxydatif, dû à la production d'espèces réactives de l'oxygène ou « Réactive Oxygen Species » (ROS).

Les ROS altèrent toute une série de substrats biologiques importants, avec comme conséquence la modification des domaines fonctionnels des biomolécules : inhibition de l'activité enzymatique, perturbation du métabolisme végétal (notamment la photosynthèse et la respiration), oxydation de protéines, altération des membranes cellulaires via l'induction de phénomènes de peroxydation lipidique, apparition de cassures au sein de l'ADN, pouvant conduire à la mort cellulaire. [91, 92,93].

2.12. Pesticides et réponses de défense:

Les plantes traitées à l'aide de pesticides subissent un stress chimique mis en évidence par le déclenchement de plusieurs réactions physiologiques, dont l'activation de réactions de défense [91]. Différentes voies de défense sont stimulées suite aux traitements pesticides. Elles développent alors une variété

de symptômes ou signes de stress. Les indicateurs de stress peuvent être visibles comme des perturbations de la croissance et de la morphologie, ou invisibles lors de modifications physiologiques et biochimiques. Parmi ces marqueurs de stress, la photosynthèse des végétaux est influencée par de nombreux stress abiotiques. L'application de pesticides fait partie de ces conditions stressantes qui sont capables de perturber le processus photosynthétique de la plante. [85,91].

CHAPITRE 03

MATERIELS ET METHODES

Nous présentons dans ce chapitre les techniques et le matériel utilisés pour l'analyse des échantillons et des solutions concentrées. Dans un deuxième temps, les méthodes et les conditions opératoires et de concentrations sont également détaillées.

3.1. Le matériel végétal et les conditions de croissance :

3.1.2. Choix de l'espèce végétale :

La Lentille d'eau *Lemna gibba*, de la famille des Lemnaceae a été choisie en raison de son utilisation au laboratoire comme plante modèle pour des études d'écotoxicologie de différents polluants. De plus, l'utilisation de *Lemna gibba* présente de nombreux intérêts, croissance rapide, biomasse importante. A l'échelle internationale, son utilisation dans des études d'écotoxicologie est croissante depuis plusieurs années. [71].

La lentille d'eau *Lemna Gibba*, utilisée dans ce travail provient du site du jardin d'essai d'El Hamma (Alger), qui est constitué d'un petit bassin récepteur des eaux de pluies (fig 3.1).



a) Site du jardin d'essai
d'el hamma2.

b) Site du jardin d'essai
d'el hamma3.

Figure 3.1 : Site de prélèvement de la lentille d'eau.

Les lentilles mises en expérience sont prélevées à partir d'une culture stock. Des colonies désinfectées par trempage rapide dans l'éthanol (pur) à (0,5% V/V), suivi d'une immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5% pendant 3 min, puis un rinçage par l'eau distillée stérile. Les lentilles ont été cultivées dans un milieu nutritif minéral, puis placées sous des conditions contrôlées décrites ci-après.

3.1.3. Milieu de culture :

La lentille d'eau *L.gibba* a été prélevée des cultures mères et sélectionnée sur la base des critères suivants : Absence de nécroses, de chlorose et de contamination algale, la colonie est composée de deux frondes adultes de tailles identiques.

Le milieu de culture utilisé est celui de Haogland légèrement modifié dont la Composition chimique en mg.L⁻¹ est la suivante : [94].

Ca (NO₃)₂ .4 H₂O : 11,8 ; KNO₃ : 10,11 ; MgSO₄ .7 H₂O : 12,35 ; KH₂PO₄ : 6,8;
 FeSO₄ .7H₂O : 2,78 ; Na₂ EDTA : 3,73; H₃BO₃: 2,86 ; MnSO₄ .7H₂O : 1,55;
 ZnSO₄.7H₂O : 0,22 ; CuSO₄. 7H₂O: 0,079; (NH₄)₆ Mo7O₂₄. 4H₂O : 0,128 ;
 NH₄VO₃ .7H₂O : 0,229 ; Co(NO₃)₂ . 6H₂O: 0,049; NiSO₄ .7 H₂O: 0,0478;
 NaWO₄.2H₂O: 0, 0179.

Les proportions en volume nécessaires à la préparation d'un litre de ce milieu de culture sont regroupées dans le tableau 1 (Appendice 1).

Ce composé organique (l'EDTA) est utilisé pour complexer le fer et lui permettre de rester disponible. [71] Avant chaque stérilisation de ce milieu à l'autoclave à 120 °C pendant 20 min, son pH est ajusté à 6,8 par ajout de la soude 0,1N.

3.1.4. Condition de culture et échantillonnage :

La nutrition minérale est assurée par une solution nutritive de Hoagland. [94].

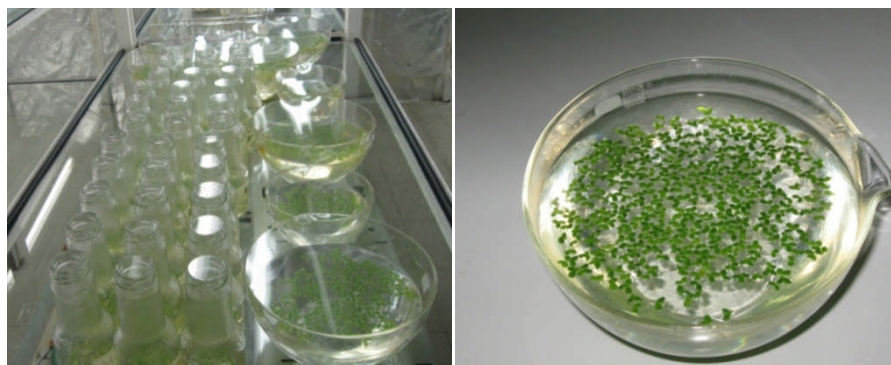


Figure 3.2 : Conditions de cultures de *Lemna gibba*.

L. Gibba utilisée dans cette étude est récoltée dans le jardin d'essai d'El Hamma (Alger). Les frondes récoltées sont lavées plusieurs fois à l'eau distillée avant d'être ensemencées dans des bacs contenant la solution nutritive.

Soit 20 colonies (Quarante frondes) de cette espèce sont cultivées dans des Erlenmeyers en verre de 250 ml de capacité, contenant 100 ml de milieu de culture Stérile dont le pH a été ajusté à 6,8. Les erlenmeyers, fermés par un film en plastique légèrement perforé, sont repartis en plusieurs lots et placés dans une chambre thermostatée (à 22 ± 2 °C) avec une photopériode de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité. En plus des témoins, on a utilisé des traitements correspondant aux gradients de concentration suivants: 0 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20 et 25 mg.L^{-1} Fenitrothion. Chaque traitement a été répété trois fois.

Après chaque deux jour, on compte le nombre de frondes (NF) avant de les peser pour déterminer le poids frais (PF). La cinétique de la croissance est suivie par le comptage journalier du nombre de frondes permettant d'estimer le temps de doublement des colonies. Le taux d'accroissement (DNF) est estimé par la différence entre le nombre de frondes initiales et finales [95].

3.2. Le produit phytosanitaire étudié :

Le Produit phytosanitaire utilisé au cours de cette étude a été choisi en raison de sa concentration importante au niveau des eaux superficielles algérienne et notamment celle de la région Mitidja, et en raison de son utilisation au niveau de Blida. Il est utilisé sous sa forme active (97% de pureté). Dans ces conditions, Nous étudierons le potentiel « phytoremédiateur » de la plante aquatique vis-à-vis de ce produit.

3.3. Paramètres de la phytotoxicité :

3.3.1. Concentrations choisies :

Les concentrations en produits testées sont choisies en fonction de celles susceptibles d'être retrouvées dans les écosystèmes aquatiques. Le Fenitrothion, sous forme de matière active pure (97%) a été utilisé pour la préparation des milieux de cultures contaminés par 0, 5, 10, 15, 20 et 25 mg.L⁻¹ de Fenitrothion.

3.3.2. Mesure de la toxicité :

Le paramètre considéré pour la mesure de la toxicité du pesticide Fenitrothion est la croissance de la lentille d'eau. C'est le paramètre le plus fréquemment retenu pour l'évaluation de la phytotoxicité [25]. Il consiste à compter le nombre de frondes aux différents instants. La croissance relative C (%), ainsi que les taux d'élimination du Fenitrothion par la lentille d'eau sont calculés selon les formules décrites dans les paragraphes suivants :

Des témoins sans plante ont servi au suivi des éventuelles disparitions des contaminants dans les milieux de cultures.

3.3.2.1. Inhibitions de la biomasse :

Après chaque traitement, la biomasse est récupérée, séchée à l'air libre puis pesée (matière fraîche MF). Les inhibitions de la biomasse I_m (%) induites

par le polluant Fenitrothion aux diverses concentrations sont calculées selon la formule suivante :

$$I_m(\%) = \frac{(m_t - m_x)}{m_t} \times 100 \quad (3.1)$$

Où m_t représentent la biomasse mesurée dans le témoin et m_x la valeur du même paramètre en présence du polluant testé.

3.3.2.2.. La croissance de la plante *Lemna Gibba* :

Pour mesurer la croissance de la plante, un dénombrement des frondes est réalisé chaque deux jour. Après chaque deux jour, on compte le nombre de frondes (NF) avant de les peser pour déterminer le poids frais (PF). Le taux d'accroissement est estimé par la différence entre le nombre de frondes initiales et finales (WANG, 1986). [25]

A partir de ces valeurs, la croissance est déterminée selon la formule suivante :

$$C(\%) = \frac{(N_t - N_0)}{N_0} \times 100 \quad (3.2)$$

Où:

N_t : est le nombre de fronde moyen à l'instant t.

N_0 : est le nombre de fronde moyen à l'instant initial. ($N_0 = 40$).

La cinétique de la croissance est suivie par le comptage (chaque deux jour) du nombre de frondes.

3.3.2.3. Taux de rétention du pesticide Fenitrothion :

Une cinétique a été effectuée pendant huit jours au cours des prélèvements périodiques (chaque deux jours) ont été effectués. Les taux de rétention du polluant sont calculés par la formule ci-après:

$$R (\%) = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} \times 100 \quad (3.3)$$

Où :

C_0 : représente la concentration initiale du polluant.

C_t : représente la concentration du polluant à l'instant t.

3.4. Mesure de la capacité d'absorption du phosphore, Nitrate et Nitrite :

Les teneurs en Nitrate, Nitrite et en phosphore sont déterminées, dans les milieux faiblement puis fortement contaminés par le Fenitrothion. Des témoins sont prévus pour le suivi de l'évolution de la teneur en phosphore, Nitrate et Nitrite dans les échantillons avec plante sans contamination.

3.5. Dosage colorimétriques :

3.5.1. Dosage du phosphore :

Pour les sels nutritifs (nitrates, nitrites, et le phosphore), les dosages ont été effectués au laboratoire d'analyse de l'A.N.R.H. de Blida. Le phosphore dans les différents échantillons est déterminé par la méthode colorimétrique [96]. Son principe est basé sur la réaction des phosphates $[PO_4^{3-}]$ avec le molybdate d'ammonium en présence d'un catalyseur (le tartrate d'antimoine de potassium) en milieu acide. Le complexe phospho-molybdique développe une coloration bleue, en présence de l'acide ascorbique, mesurable à 825 nm. Les concentrations correspondantes en phosphore sous forme de phosphate sont déterminées par extrapolation des absorbances sur la courbe d'étalonnage (Figure 1, appendice 2).

Le taux d'élimination du phosphore par la plante est calculé selon la formule suivante :

$$T_p (\%) = \frac{([PO_4^{3-}]_0 - [PO_4^{3-}]_t)}{[PO_4^{3-}]_0} \times 100 \quad (3.4)$$

Où :

$[PO_4^{3-}]_0$: représente la concentration en phosphore à l'instant initial,

$[PO_4^{3-}]_t$: représente la concentration en phosphore à l'instant t.

3.5.2. Dosage des nitrates à la méthode au salicylate de sodium :

La méthode est réalisée par la réduction quantitative (>à 95%) des ions NO_3^- est utilisée pour ce dosage. En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium qui se colore en jaune en présence du tartrate double de potassium et de sodium et d'acide sulfurique. Le complexe formé est facilement dosé par voie colorimétrique à la longueur d'onde de 420 nm. [104] (Figure 2, appendice 2).

Le taux d'élimination des nitrates par la plante est calculé selon la formule suivante :

$$T_p (\%) = \frac{([NO_3^-]_0 - [NO_3^-]_t)}{[NO_3^-]_0} \times 100 \quad (3.5)$$

Où : $[NO_3^-]_0$: représente la concentration en nitrate à l'instant initial,

$[NO_3^-]_t$: représente la concentration en nitrate à l'instant t.

3.5.3. Dosage des nitrites : (Méthode à la sulfanilamide) :

Les ions nitrites forment un diazoïque avec la sulfinilamide en milieu acide ($pH \leq 2$), le diazoïque réagit avec le N-naphtyl-éthylnediamine pour former un composant coloré. En milieu acide, les nitrites libèrent de l'acide nitreux (HNO_2) qui réagit avec la sulfanilamide, une amine aromatique, pour donner un composé diazoïque. En présence de dihydrochlorhydrate de N-(1-naphtyl) éthylène diamine il se forme un complexe de couleur rouge dosé par colorimétrie à 543 nm. [96] (Figure 3, appendice 2).

3.6. Paramètres d'évaluation analytiques :

3.6.1. Mesure du pH :

Toutes les mesures de pH sont effectuées à l'aide d'un pH-mètre de type EUTECH, muni d'une électrode en verre, étalonné avant chaque utilisation. L'évolution du pH peut également être corrélée à la dégradation du produit.

3.6.2. Détermination de la concentration résiduelle du Fenitrothion :

3.6.2.1. Méthodes spectrométriques : Spectrophotométrie UV-Visible :

Cette technique est basée sur la propriété de certaines molécules à absorber à une certaines longueurs d'ondes du spectre UV-visible. Elle permet de réaliser des dosages grâce à la loi de Beer-Lambert qui montre une relation de proportionnalité entre l'absorbance et la concentration.

La quantification de l'insecticide Fenitrothion est effectuée par UV-VIS (SHIMADZU UV-1700A) à une longueur d'onde égale à 269 nm, ainsi Les mesures sont faites dans des cuves en quartz avec un trajet optique de 1 cm. La longueur d'onde est fixée après plusieurs balayages des différentes dilutions de la solution mère (30 mg.L^{-1}) du Fenitrothion: qui a permis l'obtention du spectre UV-visible de l'échantillon entre 200 à 400 nm ainsi on a pu tracer la courbe d'étalonnage.

3.6.2.2. L'analyse par infrarouge (IRTF):

La spectrophotométrie infrarouge est une technique d'analyse qui permet de donner des informations sur les différents groupements fonctionnels et les liaisons des atomes. Elle permet de caractériser les fonctions chimiques des produits organiques. Une molécule soumise à des radiations en infrarouge peut absorber certaines d'entre elles à des longueurs d'ondes qui correspondent aux fréquences de vibration des groupements chimiques constitutifs. Cette méthode spectrale permet de suivre les modifications qui se produisent dans le milieu durant le processus de dégradation, en détectant ainsi l'apparition ou l'absence des groupements fonctionnels.

Les spectres IR ont été obtenus à l'aide d'un spectrophotomètre à transformation de FOURIER de marque SHIMDZU type 8900, l'appareil est piloté par microordinateur muni d'un logiciel spécialisé pour l'acquisition et le traitement des résultats, sur une gamme de $400\text{-}4000\text{cm}^{-1}$.

L'échantillon est préparé par micropastillage dans du bromure de potassium (KBr) et soumis à une pression de 20 bar/cm². La pastille ainsi formée est passée rapidement dans l'appareil IR pour l'analyse. Le spectre obtenu représente $Abs = f(\mu)$ avec Abs : Absorbance ; μ : nombre d'onde = $1/\lambda$ exprimé en cm⁻¹. Logiciel Winfirst a été utilisé pour le traitement des spectres obtenus

3.6.2.3. La chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) :

Dosage du Fenitrothion:

L'HPLC est adaptée à l'analyse de molécules organiques polaires. Le dosage du Fenitrothion a été réalisé par une chaîne de chromatographie phase liquide à haute performance (HPLC : High performance liquid chromatography, « qui est une technique de séparation et d'analyse des constituants, à la fois qualitative et quantitative », système SHIMADZU SPD –M 10 AV V p), équipé d'un détecteur et barrettes de diodes.

L'injection des échantillons (un volume de 20 μ l) s'effectue à l'aide d'une seringue de type HAMILTON – BONADUZ SCHWEIZ (100 μ l). La molécule est séparée sur colonne en phase inversées C-18 (125x4 mm ; hypersil high purity elite, 5 μ m). L'élution dure 4 min, avec un mélange de (50 / 50; d'acétonitrile/eau) de la phase mobile, circulant à un débit de 1,4 ml/min. La détection du produit s'effectue à une longueur d'onde fixée à 269 nm. L'identification des pics d'absorption sur le chromatogramme s'effectue sur la base des temps de rétention.

Afin d'éviter toute contamination avec les composés résiduels, un nettoyage de la colonne chromatographique était effectué par un mélange méthanol / eau (70/30 ; V/V) avant chaque analyse. Avant l'injection dans la colonne, les échantillons ont été filtrés par des filtres seringue spécifique pour HPLC de 0,22 μ m de diamètre, afin d'éviter tout encrassement de la colonne. Les concentrations de pesticides dans l'échantillon sont calculées en

comparant les surfaces des pics des produits de l'échantillon à celles obtenues avec des solutions étalons de concentrations connues.

3.7. Dosage des activités enzymatiques :

L'activité enzymatique est une mesure de la quantité d'enzyme active dans une préparation. L'approche cinétique consiste à suivre en continue la quantité du composé voulu.

La catalase par mode Cinétique:

La CAT catalyse la décomposition du H₂O₂ en eau et en oxygène moléculaire. La décomposition de H₂O₂ peut être suivie directement par la diminution de l'absorbance à 240 nm pendant 2 min. [97].

L'activité Catalase (CAT, EC 1.11.1.6) a été déterminée par mesure de la consommation de H₂O₂ à 240 nm ($\epsilon = 40$ /mM.cm), selon Cordova Rosa et al. (2003). [105]. Le mélange d'action contient 1 ml de la solution tampon de phosphate de potassium (50 mM, pH 7,0, 25 ° C), 1 ml 10 mM H₂O₂ (30%) et 100 μ l de surnageant enzymatique contenant de l'extrait. [21].

Pour les mesures de l'activité enzymatique, environ 50 colonies de *L.gibba* par échantillon ont été séchées sur une serviette en papier et placées dans un mortier en céramique, homogénéisé dans 1 ml de solution tampon de phosphate de potassium (50 mM, pH 7,0) où ils ont été congelés à l'état liquide.

Les homogénats sont centrifugés à (15 min, 15000 tr / min à 4 °C) et le surnageant est congelé et conservé jusqu'à la détermination de l'activité enzymatique. [21].

CHAPITRE 04

RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1. Effets sur la biomasse :

Les résultats montrent que la biomasse (en lentille d'eau), dans les milieux de cultures sans pesticide (témoin), augmente graduellement durant la période de culture (Figure 4.1). Après huit jours d'expérimentation, la biomasse passe de 61 mg à 160 mg, soit une croissance de 61,88 %.

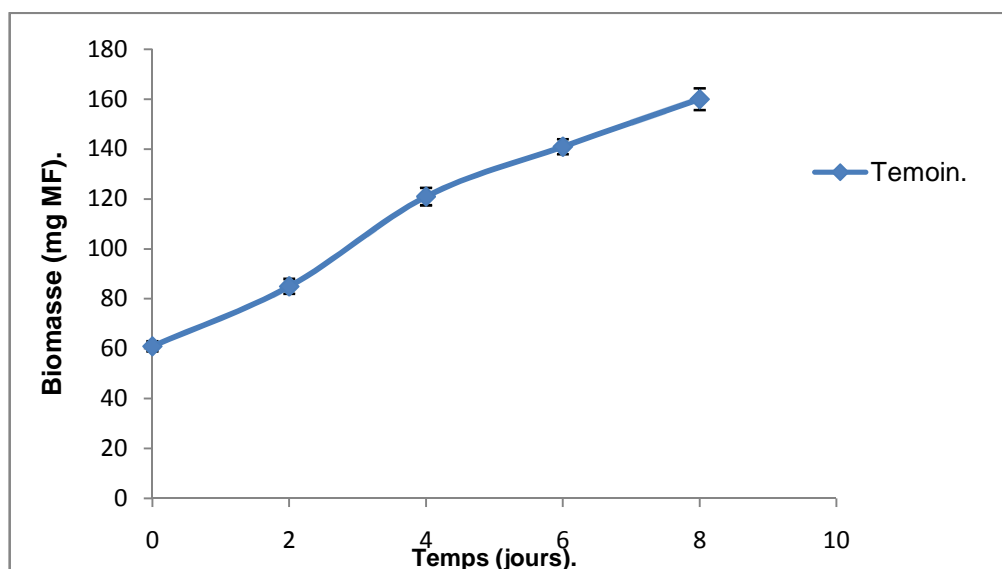


Figure 4.1 : Evolution de la biomasse dans le milieu de culture sans le fenitrothion.
(Valeurs moyennes \pm écart type, n=3).

Cette augmentation est plus rapide durant les quatre premiers jours de culture.

L'exposition de cette espèce de lentille d'eau, *L. gibba*, à différentes concentrations en fenitrothion, a provoqué des réductions de la biomasse. Durant les deux premiers jours, la biomasse de *L. gibba* a été sensiblement réduite par la présence des différentes concentrations en contaminant.

(Figure 4.2)

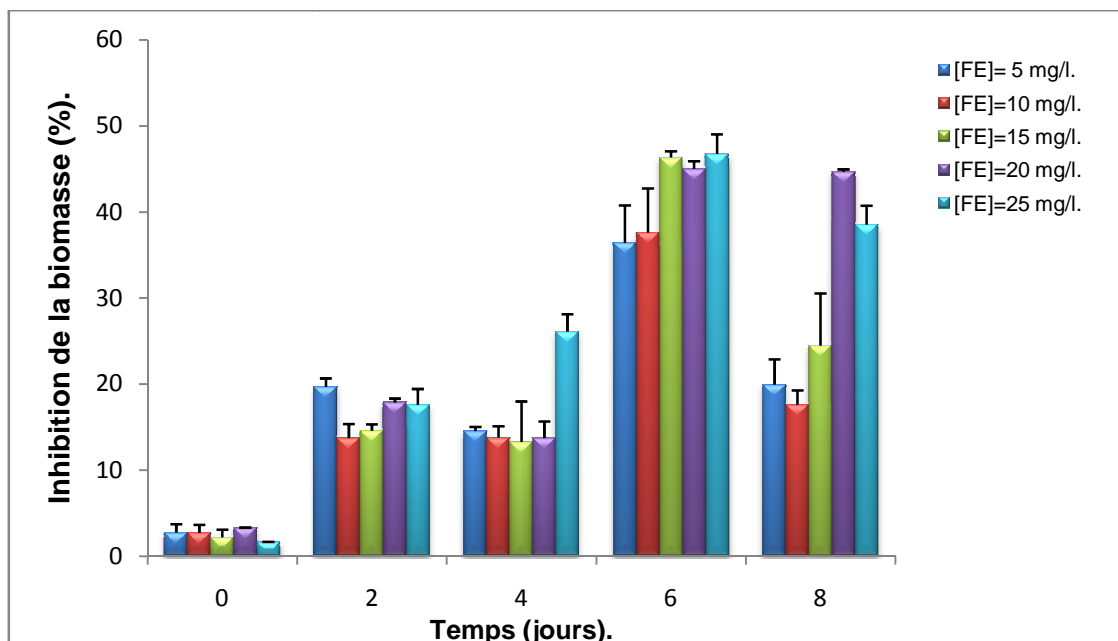


Figure 4.2 : Inhibition de la biomasse de la *Lemna* dans le temps à différentes concentrations en Fenitrothion (valeurs moyennes \pm écart type ; n=3).

A des concentrations supérieures à 15 mg.L^{-1} en fenitrothion, les inhibitions enregistrées pour *L.gibba* varient entre 13,74 et 26,11% au quatrième jour. La prolongation de la durée d'exposition se traduit par des inhibitions plus importantes avec un effet plus marqué sur la biomasse

4.2. Effet du fenitrothion sur la croissance de *L. gibba* :

L'exposition de *L. gibba*, à différentes concentrations en fenitrothion a provoqué des réductions de la biomasse (Fig4.3). On note Une augmentation remarquable dans le cas du témoin durant les huit jours du traitement, elle a même pu atteindre les 112.5 % au bout de 8 jours.

En effet, on observe une inhibition hautement significative de la croissance exprimée aussi bien par la multiplication des frondes (NF) que par la biomasse (exprimée en poids frais), en réponse au gradient de concentration utilisé. La croissance chez *lemna gibba* est affectée d'une manière importante.

On remarque que cette augmentation est visiblement plus rapide durant les quatre premiers jours de culture.

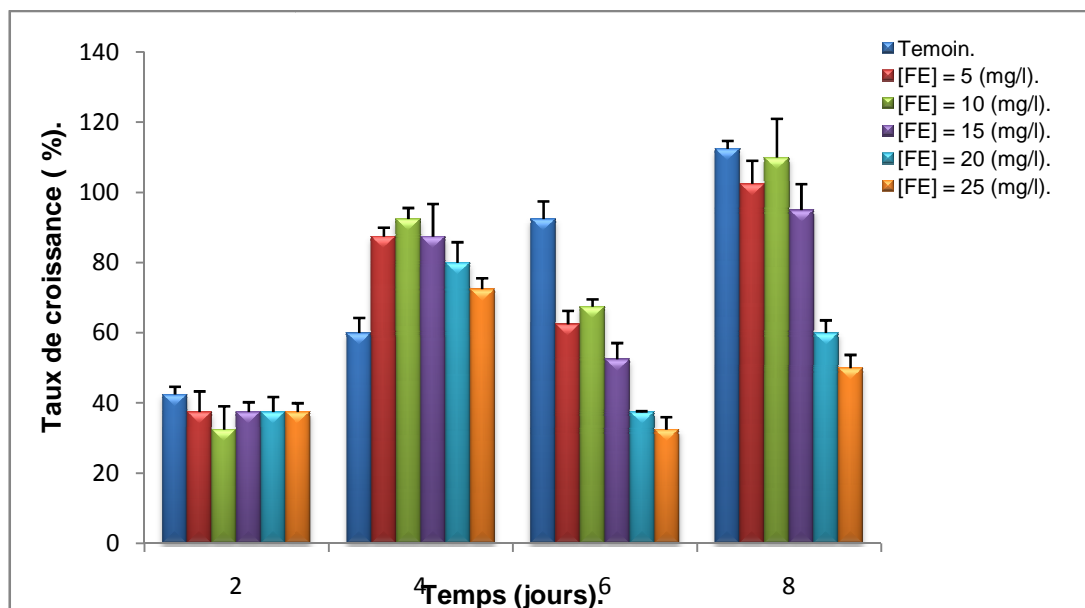


Figure 4.3 : Le taux de croissance de *Lemna gibba* en fonction du temps à différentes concentrations en Fenitrothion (valeurs moyennes \pm écart type ; n=3).

Les plantes exposées à différentes concentrations en fenitrothion ont montré deux comportements différents vis-à-vis de cet insecticide :

Aux faibles concentrations 5, 10 et 15 mg.L⁻¹, l'évolution de la croissance est très comparable à celle du témoin. En effet, après huit jours d'exposition, les taux de croissance atteignent une valeur maximale de 110%, qui dépassent même les taux de croissances à quatre jours d'exposition, qui sont eux même très appréciables par rapport au témoin. L'effet du fenitrothion sur la croissance est relativement faible durant les deux premiers jours de traitement, les taux de croissances observés varient entre 32,50% et 38,33 %.

Aux fortes concentrations 20 et 25 mg.L⁻¹, un ralentissement de la croissance est observé après quatre jours de traitement par rapport aux faibles concentrations. Donc, on peut dire que les taux de croissances sont très appréciables durant les quatre premiers jours avec un taux de croissance maximale qui dépasse les 90% pour une concentration, de 10 mg.L⁻¹, et

minimale qui dépasse les 70% pour une concentration de 25 mg.L⁻¹. Cette croissance optimale est suivie par un ralentissement remarquable au sixième jour où les taux de croissance n'excèdent pas les 50% en moyennes).

Globalement, le taux de croissance maximale de la plante pour les différentes concentrations 5, 10, 15, 20 et 25 mg.L⁻¹ respectivement sont 87,5; 92,5; 87,5; 80 et 72,5 % sont atteints au bout du quatrième jour, une réduction aux sixième jours de traitement de la croissance apparaît significativement surtout pour les concentrations 20 et 25 mg.L⁻¹.

Le fenitrothion à son état pur à un pouvoir limitant assez faible sur la croissance de *L.gibba*. En effet les taux de croissance enregistrés après 4 jours d'essais, varient de 72.50 à 92.50% et de 32.50 à 67.50% durant une période de 6 jours. Un tel résultat est considéré intéressant pour l'hypothèse de tester la possibilité de la mise en œuvre de la phytoremédiation dans le cas de cet insecticide. Par ailleurs, l'observation des plantes exposées au fenitrothion n'induit aucun symptôme visible, sauf la chute des racines concernant les fortes concentrations.

D'après Patsikka et al, (2002) certains toxiques (herbicides, insecticides,...) peuvent aussi inhiber la croissance en diminuant l'absorption du fer par la plante qui est un cofacteur essentiel à la croissance. [98] Ce qui nous permet de conclure que l'inhibition de la croissance correspond à l'inhibition de certains minéraux nécessaires au fonctionnement physiologique de la plante ainsi que pour sa croissance.

4.3. Identification des changements de la structure du végétal en présence du fenitrothion :

Cette analyse a été considérée pour l'examen du changement de la structure de la biomasse après son exposition au fenitrothion. Elle permet donc l'identification ou la confirmation des inhibitions mise en évidence dans les tests de croissance.

L'analyse par IR a permis d'obtenir des spectres qui montrent des changements fonctionnels durant le processus d'élimination par *lemna gibba*. Quelques résultats de l'analyse par IR sont représentés sur les figures (4.4 et 4.5) suivantes. Cette analyse a été réalisée comme un complément d'identification de l'influence du fenitrothion sur le végétal. L'intérêt qu'occupent ces végétaux dans l'épuration des eaux est dû principalement à leurs biomatériaux.

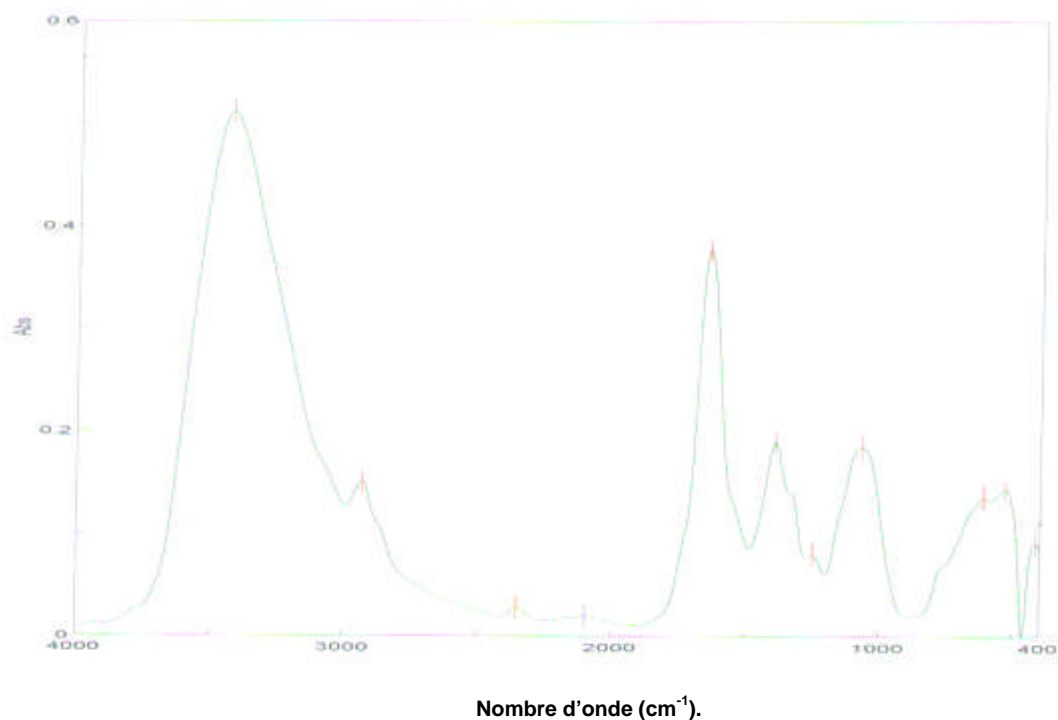


Figure 4. 4 : Spectre Infrarouge du broyat de *La lemna gibba* avant mise en contact avec la solution contaminée.

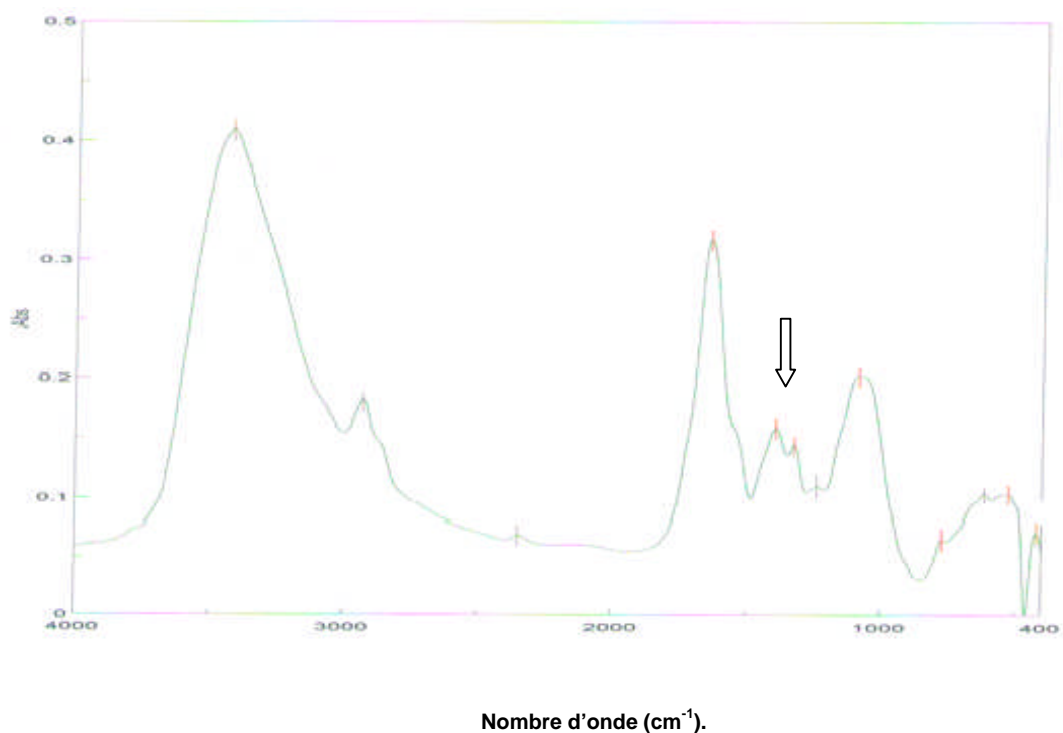


Figure 4.5 : Spectre Infrarouge du broyat de *La lemna gibba* après mise en contact avec la solution contaminée.

- L'analyse du spectre IR du Fenitrothion pur permet de détecter une bande caractéristique située à $(900-1050) \text{ cm}^{-1}$ relatif à la vibration ester de l'acide phosphorique (P-O-R).

- Cette vibration caractéristique permet de mettre en évidence la présence du Fenitrothion dans la plante par comparaison des spectres IR de la plante en absence du Fenitrothion et lors de la bioaccumulation de ce dernier.

4.4. Evolution du pH du milieu:

Les résultats du Tableau 4.2 montrent une faible variation du pH (inférieur à 0,6 d'unité de pH.) Cependant les variations de la concentration de cet insecticide des milieux de cultures en présence de la plante, a été marquée par des augmentations en pH, variant de 2 à 3 unités de pH. (Tableau 4.3)

Tableau 4.1 : Variation du pH du milieu de culture en absence de *Lemna* contaminé en fonction du temps à différentes concentrations en Fenitrothion (valeurs moyennes \pm Ecart types ; n=3).

C(mg.L ⁻¹)	Temps (jours).				
	0	2	4	6	8
0	(6,81 \pm 0,01)	(6,89 \pm 0,06)	(6,87 \pm 0,14)	(6,96 \pm 0,11)	(6,89 \pm 0,03)
5	(6,81 \pm 0,03)	(6,90 \pm 0,07)	(6,92 \pm 0,04)	(6,96 \pm 0,08)	(6,93 \pm 0,04)
10	(6,86 \pm 0,10)	(6,91 \pm 0,12)	(7,06 \pm 0,04)	(6,89 \pm 0,02)	(6,96 \pm 0,03)
15	(6,82 \pm 0,10)	(6,89 \pm 0,05)	(7,13 \pm 0,04)	(7,05 \pm 0,05)	(7,12 \pm 0,01)
20	(6,75 \pm 0,05)	(7,15 \pm 0,23)	(7,10 \pm 0,29)	(6,9 \pm 0,06)	(7,06 \pm 0,10)
25	(6,78 \pm 0,07)	(6,99 \pm 0,24)	(6,98 \pm 0,14)	(6,92 \pm 0,10)	(6,93 \pm 0,08)

La concentration du fenitrothion dans le milieu de culture sans plante reste relativement stable. Dans ce cas, le pH augmente jusqu'à une valeur égale à 7,2 puis il se stabilise autour de cette valeur au quatrième jour.

Tableau 4. 2: Variation du pH du milieu de culture en présence de Lemna contaminé en fonction du temps à différentes concentrations en Fenitrothion (valeurs moyennes \pm Ecart types ; n=3).

C(mg.L ⁻¹)	Temps (jours).				
	0	2	4	6	8
0	(6,82 \pm 0,03)	(7,01 \pm 0,12)	(7,26 \pm 0,25)	(7,35 \pm 0,09)	(8,64 \pm 0,13)
5	(6,68 \pm 0,04)	(7,00 \pm 0,015)	(7,22 \pm 0,03)	(7,26 \pm 0,15)	(7,65 \pm 0,17)
10	(6,67 \pm 0,10)	(6,98 \pm 0,22)	(7,27 \pm 0,25)	(7,43 \pm 0,25)	(7,81 \pm 0,05)
15	(6,73 \pm 0,11)	(6,93 \pm 0,18)	(7,20 \pm 0,26)	(7,23 \pm 0,18)	(7,82 \pm 0,14)
20	(6,67 \pm 0,11)	(7,02 \pm 0,08)	(7,12 \pm 0,17)	(7,20 \pm 0,12)	(7,69 \pm 0,03)
25	(6,79 \pm 0,05)	(7,05 \pm 0,11)	(6,98 \pm 0,16)	(7,30 \pm 0,20)	(7,45 \pm 0,11)

Les variations du pH sont dans certains cas dans le domaine de l'alcalinité qui est justifiée par le fait que Lemna est une plante alcalinisante. Cette alcalinisation du milieu est due à la désamination de la source d'azote qui favorise la libération des groupements NH₄⁺ donnant ainsi un pH basique.

4.5. Capacité d'absorption du phosphore, des nitrates et des nitrites par *Lemna gibba*:

4.5.1. Effet du fenitrothion sur le phosphore (sous forme phosphates (PO₄)³⁻ contenu dans le milieu de culture en présence de *lemna* durant 8 jours:

Les résultats relatifs à l'évolution de la quantité du phosphore, dans les milieux de cultures, en fonction du temps en présence de *L. gibba* sont représentés par la (figure 4. 6)

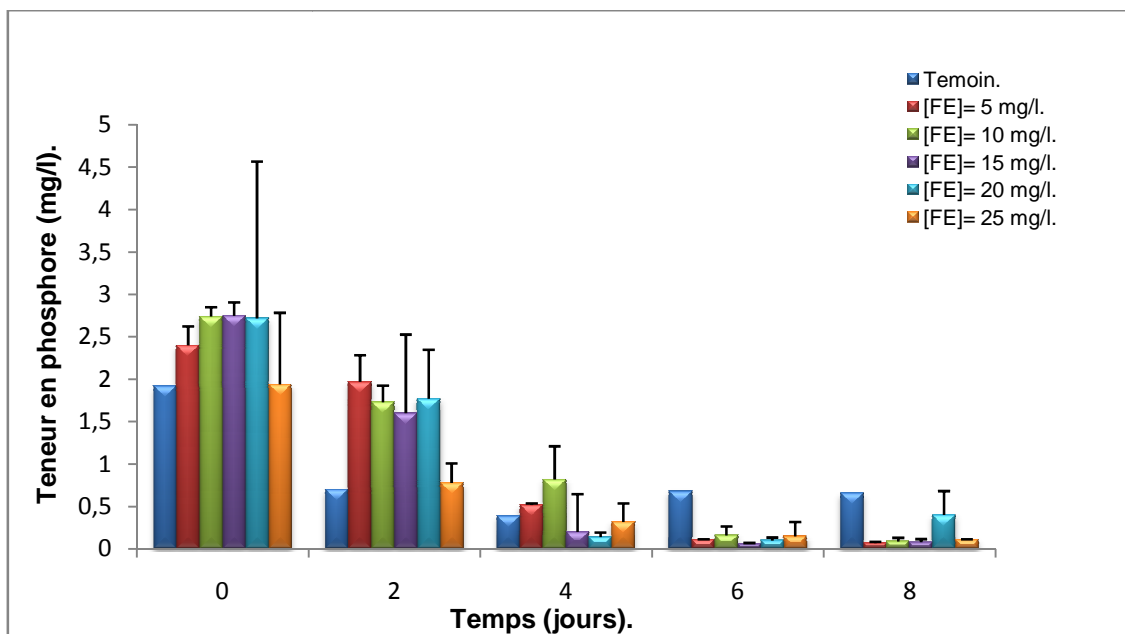


Figure 4.6 : Evolution de la teneur en phosphore des milieux de cultures en présence de l'insecticide Fenitrothion (valeurs moyennes \pm Ecart types, n=3).

L'effet des différentes concentrations du pesticide sur la plante a provoqué une diminution des phosphates dans le milieu. Ces diminutions successives des concentrations des phosphates correspondent à l'assimilation de ces derniers par la lentille d'eau *lemna gibba*, qui les utilise sous différentes forme. Dans tous les cas, nous remarquons une importante diminution pendant quatre jours, qui sont plus prononcée dans le témoin, suivis d'une légère augmentation à la fin des tests. Les teneurs supérieures à 0,5 mg.L-1 doivent constituer un indice de pollution, et les concentrations inférieures aux normes exigées peuvent être expliquées par le phénomène d'assimilation de cet élément par la plante aquatique (*lemna gibba*).

Selon Roman et al, (1969), l'évolution du phosphore est comparable à celle de l'azote. A la fructification, l'accumulation au niveau des parties aérienne est moins importante par suite de la migration rapide du phosphore vers les organes de réserves. [99]

Les taux de phosphore réduits par la présence du fénitrothion sont présentés dans la figure 4.7.

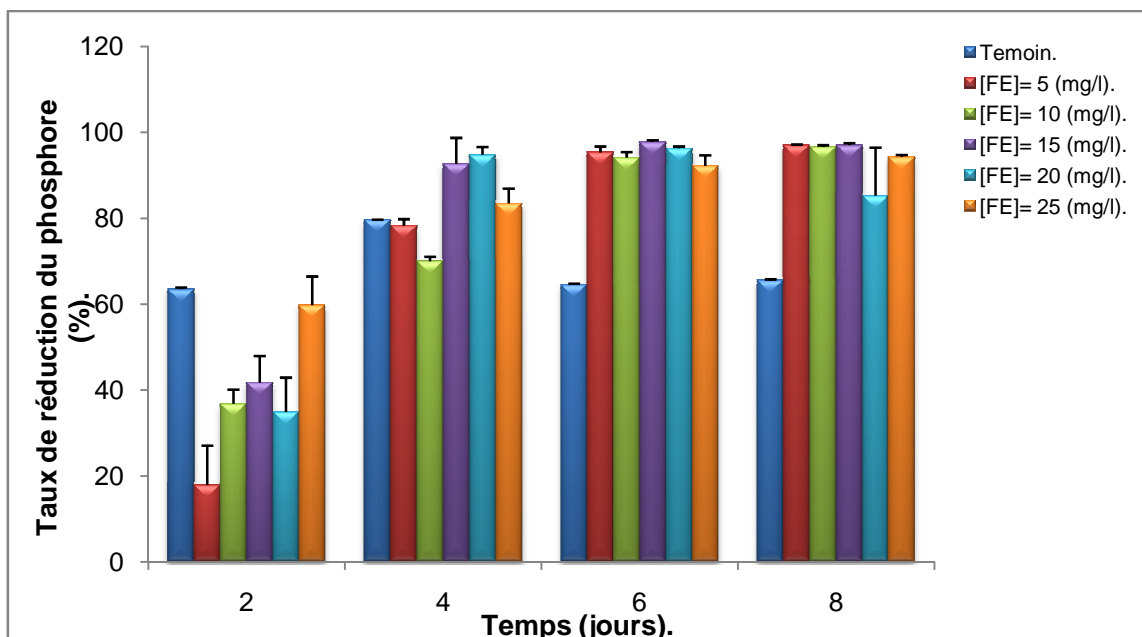


Figure 4. 7 : Le taux de réduction du phosphore en fonction du temps à différentes concentrations en fenitrothion (valeurs moyennes \pm écart type ; n=3).

On note en effet, des réductions importantes en phosphates dans les milieux de cultures sans contaminants. Après deux jours d'essais, la teneur passe de $1,92$ à $0,7 \text{ mg.L}^{-1}$, soit un taux d'élimination de $63,54 \%$. Après quatre jours d'essais, la réduction de la teneur en phosphore est assez importante et correspond à 79.69% . A la fin de la durée d'expérimentation, une légère diminution du taux de réduction due à l'augmentation de la teneur en phosphore dans le milieu $0,66 \text{ mg.L}^{-1}$. Dans les milieux contaminés, un ralentissement dans la biosorption du phosphore est observé. Cependant, en présence de 5 et 10 mg.L^{-1} en fenitrothion, les réductions en phosphore sont de $17,92$ et $36,86\%$ respectivement au bout de deux jours, (soient un taux de ralentissement de $71,80$ et $41,90\%$ par rapport au témoin) et une réduction de $78,33$ et $70,07\%$ respectivement pour une durée de quatre jours d'essais, (soient un taux de ralentissement de $1,71$ et $12,07 \%$. En présence de 15 , 20 et 25 mg.L^{-1} de fenitrothion, les réductions en phosphore restent appréciables et sont de $92,73$, $94,85$ et $83,51\%$ respectivement. Des concentrations plus importantes provoquent un ralentissement de la disparition du phosphore dans

les milieux de cultures. Les concentrations passent de 2,75 à 0,20 mg.L⁻¹ et de 2,72 à 0,14 mg.L⁻¹ et de 1,94 à 0,32 mg.L⁻¹ respectivement après quatre jours de culture.

4.5.2. Evolution de la teneur en nitrates des milieux de cultures en présence de l'insecticide fenitrothion:

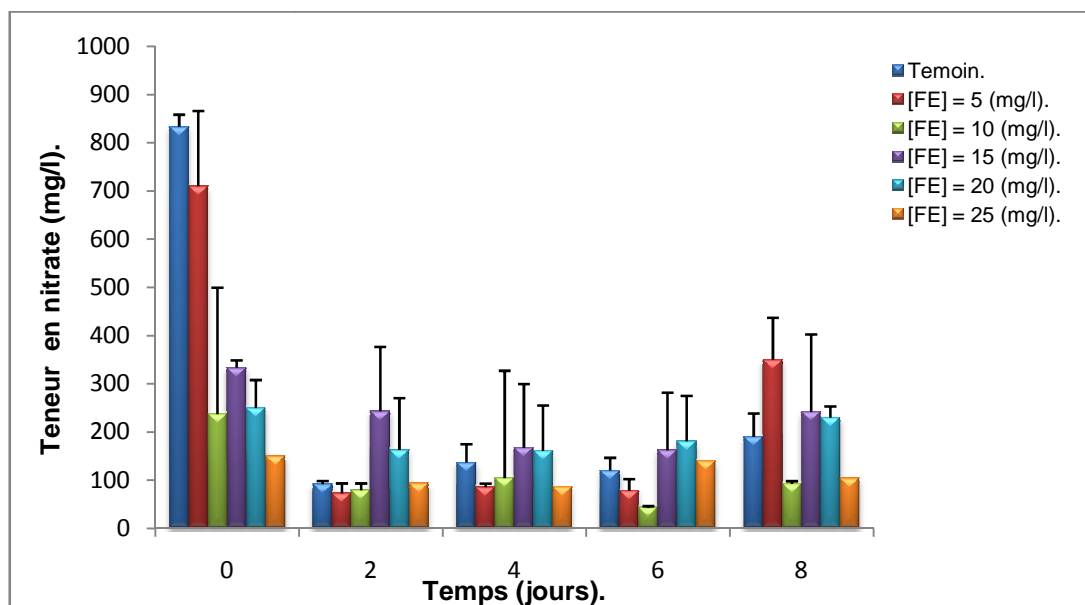


Figure 4. 8: Evolution de la teneur en nitrates des milieux de cultures en présence de l'insecticide fenitrothion (valeurs moyennes \pm écart type ; n=3).

D'après ces résultats, et comme pour une observation globale, on remarque que les concentrations en nitrates sont très élevées dès le début du traitement pour la raison du faite que le milieu de culture de la croissance de *lemna* est un milieu riche en élément nutritif. La variation des nitrates selon la (figure 4.8) est assez importante concernant le témoin par rapport à celle en présence du fenitrothion.

Selon les travaux de Walstad (2003), une étude comparative entre l'absorption de différente forme d'azote par l'espèce a prouvé que la lentille d'eau *lemna gibba* absorbait 50% de l'ammonium dans une solution nutritive au cours de 5 heures, même si la solution contient plus de cent fois plus de nitrates que d'ammonium. Selon cet auteur, l'assimilation de nitrates semble exiger plus d'efforts. [100] Dans le cas du témoin, la concentration en nitrate a

diminué durant les deux premiers jours ce qui explique l'assimilation de ce dernier par la *lemna gibba* pour sa croissance.

D'après les études de Roman et al (1969), la concentration en azote augmente durant la formation de l'appareil foliaire et décroît ensuite, d'abord rapidement, puis lentement jusqu'à la floraison. La deuxième assimilation importante se situe à la floraison-fructification. A la mort des feuilles et des tiges l'azote migre et s'accumule dans les organes de réserve. [99].

4.5.3. Evolution de la teneur en nitrites des milieux de cultures en présence de l'insecticide fenitrothion :

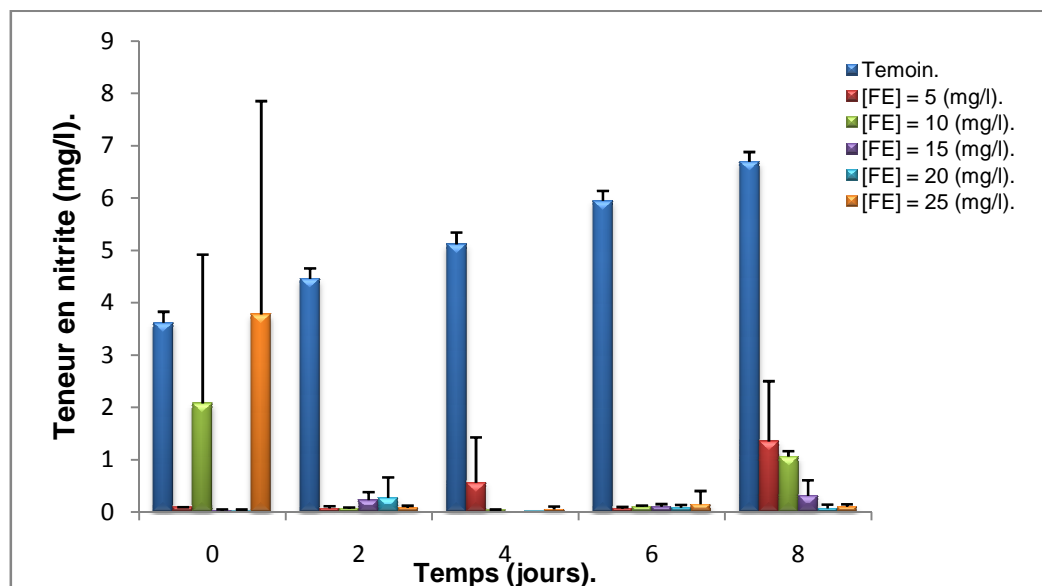


Figure 4.9 : Evolution de la teneur en nitrites des milieux de cultures en présence de l'insecticide fenitrothion (valeurs moyennes \pm écart type ; n=3).

L'évolution des quantités de nitrites contenues dans le milieu de culture contaminé par le fenitrothion montre l'influence de ce dernier. La présence des nutriments a été classée comme l'un des facteurs très importants qui affecte l'élimination des polluants (insecticide).

Selon Copin-Montegut (1996), de nombreuses bactéries (nitrifiantes autotrophes) sont capables de réduire les nitrates en nitrites, ceci peut être la cause de l'augmentation des concentrations en nitrites. C'est une étape de passage entre les formes nitrates et ammonium. Les faibles concentrations en

nitrites sont dues probablement à leur transformation en nitrates par le processus d'oxydation par la *Lemna*. [72].

Les taux de réduction des nitrates en fonction du temps et des différentes concentrations en fenitrothion sont donnés dans le tableau 4.3.

Tableau 4.3: Taux de réduction des nitrates en fonction du temps.

(Valeurs moyennes \pm écart type ; n=3).

C (mg.L ⁻¹)	Temps (jours)			
	2	4	6	8
0	(89,00 \pm 06,66)	(83,60 \pm 37,86)	(85,60 \pm 26,46)	(77,20 \pm 48,60)
5	(89,76 \pm 20,55)	(87,93 \pm 07,23)	(89,01 \pm 24,27)	(50,70 \pm 87,18)
10	(66,57 \pm 13,87)	(56,04 \pm 54,08)	(81,74 \pm 02,89)	(61,10 \pm 05,51)
15	(27,1 \pm 133,37)	(49,70 \pm 132,00)	(51,30 \pm 119,27)	(27,40 \pm 160,41)
20	(34,93 \pm 107,8)	(35,60 \pm 93,98)	(27,73 \pm 94,24)	(08,00 \pm 20,00)
25	(38,00 \pm 04,04)	(42,45 \pm 47,35)	(06,67 \pm 10,00)	(30,89 \pm 14,36)

Les résultats relatifs à l'évolution du taux d'assimilation des nitrates par la plante aquatique montrent que ce phénomène est sensible à la présence du fenitrothion. Le taux de réduction des nitrates des milieux de culture sans contaminant est compris entre (77,20 \pm 48,60) % et (89,00 \pm 06,66) %. Pour les faibles concentrations 5 et 10 mg.L⁻¹ en fenitrothion, et durant les deux premiers jours, des taux de réduction en nitrates importants de (89,76 \pm 20,55) % et (66,57 \pm 13,87) % sont observés respectivement, et des valeurs appréciables de (87,93 \pm 07,23) % et (56,04 \pm 54,08) % pour des essais de quatre jours. Il semble donc qu'à faibles concentrations 5 et 10 mg.L⁻¹, le pesticide exerce un pouvoir stimulant de la biosorption des nitrates.

A des concentrations plus élevées en fenitrothion 15, 20 et 25 mg.L⁻¹, une baisse sensible du taux de réduction des nitrates est enregistrée. Dans ces

conditions ce taux est de $(49,70 \pm 132,00)\%$, $(35,60 \pm 93,98)\%$ et $(42,45 \pm 47,35)\%$ respectivement, et après une légère hausse de la biosorption durant les quatre premiers jours, les réductions obtenues sont inférieurs à celle du témoin. Donc à fortes concentrations en fenitrothion, l'effet inhibiteur de l'absorption des nitrates devient de plus en plus important.

4.6. Evaluation des taux d'élimination du Fenitrothion :

Les spectres d'absorption du fenitrothion sont regroupés et représentés par la figure 4.10.

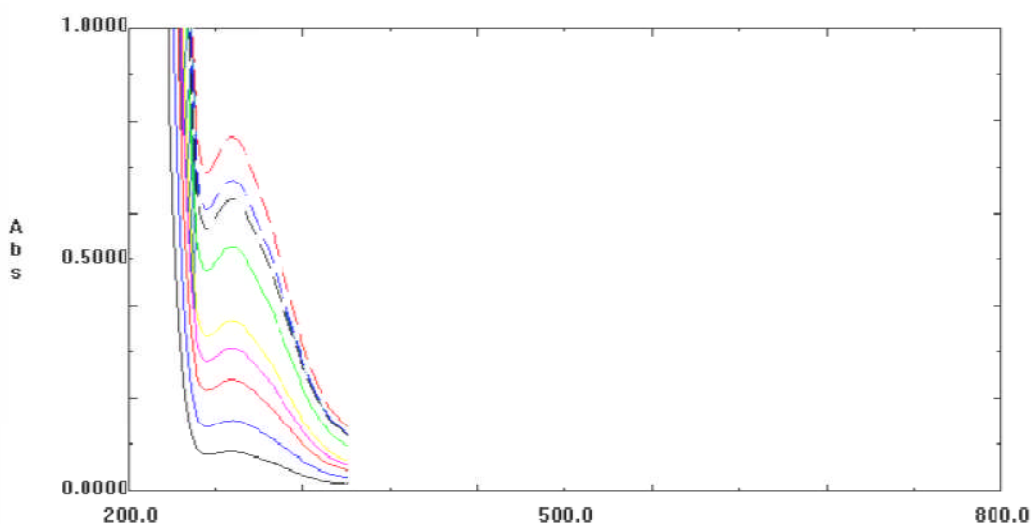


Figure 4.10: Spectres d'absorption du fenitrothion.

La courbe d'étalonnage ainsi obtenue par UV est représentée par la (figure5). La quantification de l'insecticide Fenitrothion est effectuée par UV-VIS à une longueur d'onde égale à 269 nm. (Annexe 4).

La courbe d'étalonnage ainsi obtenue par HPLC est représentée par la (figure 6, annexe 4). Cette analyse est basée sur le fait que l'aire des pics chromatographiques est proportionnelle à la concentration ou à la quantité de produit analysé. L'injection ultérieure du même volume V de l'échantillon à doser permet, à l'aide de la mesure de l'aire du pic reportée sur la courbe d'étalonnage, de connaître la concentration recherchée. $Aire = f(C)$.

4.6.1. Evolution de la concentration en fenitrothion en fonction temps dans les milieux de cultures en absence et en présence de *L. gibba* :

Les spectres obtenus par HPLC pour la quantification du fenitrothion sont présentés en figure7 (annexe 5).

En absence de la plante et après 8 jours de culture, la réduction des quantités du fenitrothion du milieu de culture est comprise entre 4,3 et 28 % de la concentration initiale.

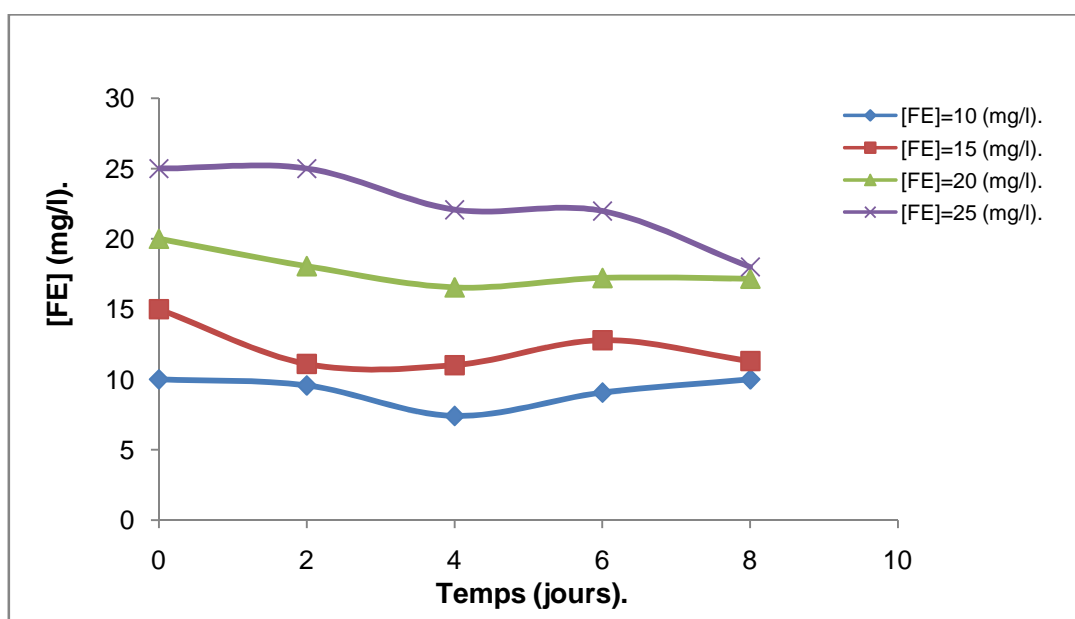


Figure 4.11 : Evolution de la concentration en fenitrothion en fonction temps dans les milieux de cultures en absence de *L. gibba*.

En présence de *L. gibba*, les pourcentages d'élimination sont plus importants, des valeurs comprises entre 8,9 et 80,76 % ont été obtenues à 5, 10, 15, 20 et 25 mg.L⁻¹ de pesticide. Une différence très remarquable est observée entre les taux d'éliminations de quatre et huit jours. Le maximum d'élimination atteint après quatre jours est de 71,33 % pour une concentration de 15 mg.L⁻¹, et 80,76 % pour une concentration de 25 mg.L⁻¹ durant les essais. Cette élimination augmente donc proportionnellement avec la concentration en insecticide, avec un effet apparent au quatrième jour dont les pourcentages d'éliminations en fenitrothion sont de 30,4 ; 61,9 ; 71,33 ; 47,1 et 32,84 % pour des concentrations respectives de 5 ; 10 ; 15 ; 20 et 25 mg.L⁻¹.

(Figure 4.12). Ainsi, on peut dire que la lentille d'eau *lemna gibba* fixe le fenitrothion de façon croissante en fonction du temps jusqu'à atteindre une valeur maximale retenue au quatrième jour.

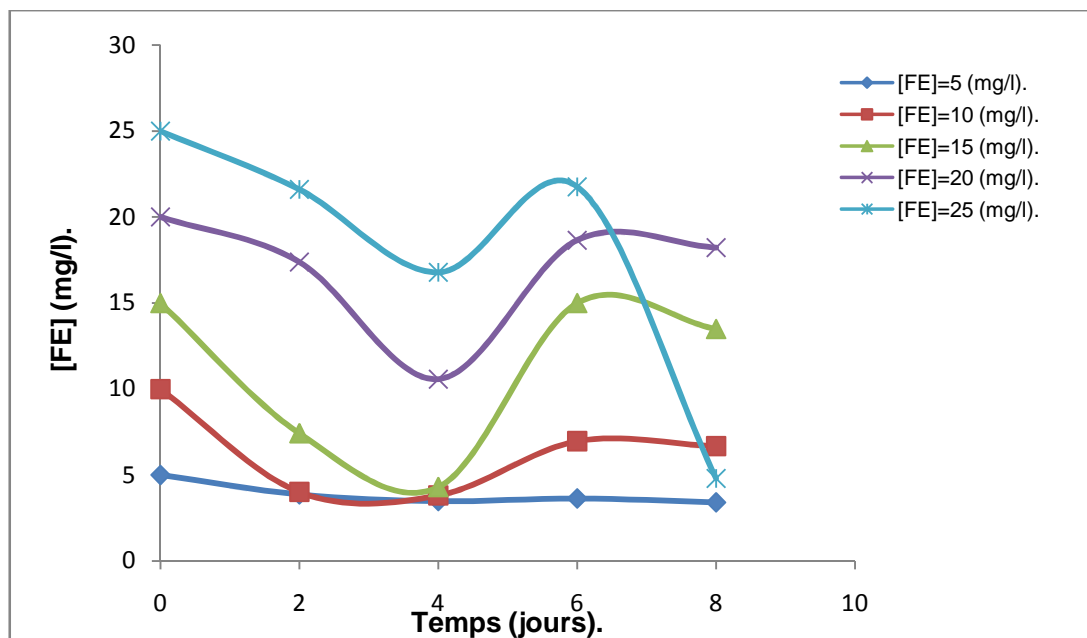


Figure 4.12: Evolution de la concentration en fenitrothion en fonction temps dans les milieux de cultures en présence de *L. gibba*.

Les plantes exposées à des concentrations élevées en pesticides manifestent généralement des symptômes observables (petites tailles, non séparation des frondes, chute des racines,...) et qui reflètent l'intensité et la diversité des perturbations engendrées par ces contaminants sur le fonctionnement cellulaires. D'autres effet et symptômes, comme l'inhibition de la croissance et la formation d'individus de petites tailles avec des formes recroquevillées, suggèrent des problèmes de divisions et/ou d'élongation cellulaire. [22]

Par ailleurs, nous notons (figure 4.12) dans le cas de concentrations élevées de fenitrothion 10, 15, 20 et 25 mg.L⁻¹ une réapparition de ce produit en solution ce qui serait la conséquence d'un relargage suite à la destruction de la partie de la biomasse qui subi des nécroses.

4.6.2. Taux d'élimination du fenitrothion résiduelle en fonction du temps en présence de *L.gibba*:

La figure 4.13 représente les pourcentages d'élimination du fenitrothion en fonction de la durée d'expérience.

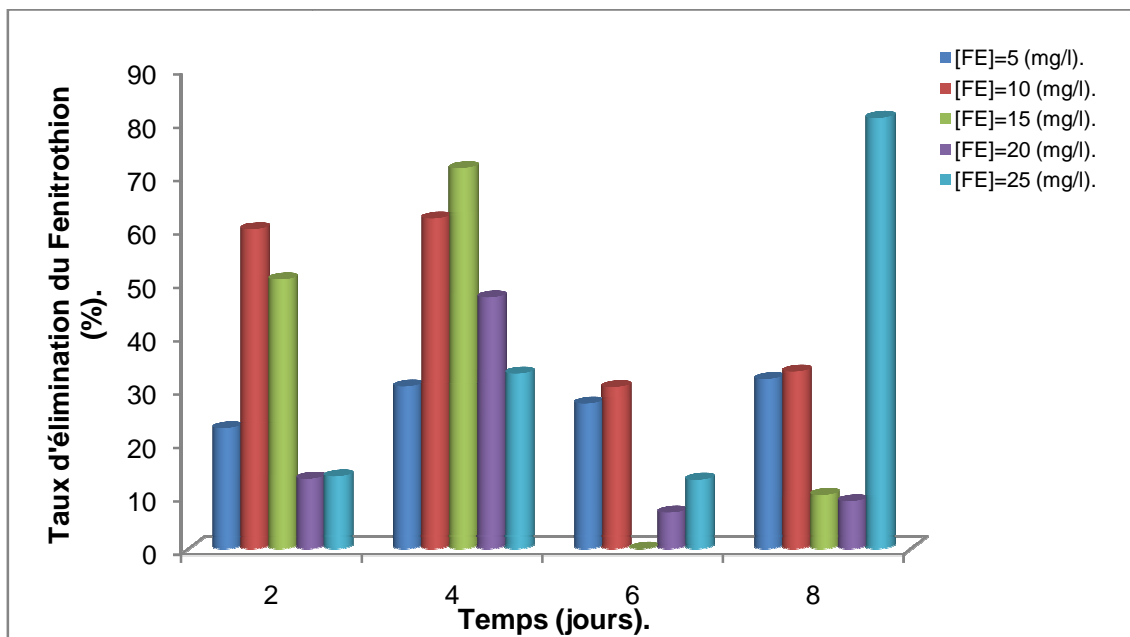


Figure 4.13 : Taux d'élimination du fenitrothion résiduelle en fonction du temps en présence de *lemna gibba*.

Ces résultats confirment le faible effet du fenitrothion sur la plante, et semble être une propriété générale de cette lentille d'eau présentant ainsi une faible sensibilité au fenitrothion. D'autre part, nos résultats montrent que le fenitrothion est peu toxique pour la *lemna gibba* particulièrement durant les premiers jours de test. La cinétique de la concentration du polluant dans les milieux de culture sans plante révèle un taux d'élimination de 4,3 à 28 % de l'insecticide, plusieurs facteurs peuvent être impliqués (la lumière, précipitation, durée de la conservation.....). En présence de la lentille d'eau, les résultats montrent une bonne performance de la *L. gibba* dans l'élimination du fenitrothion. En effet, après quatre jours de traitement la rétention est maximale 30,4 ; 61,9 ; 71,33 ; 47,1 et 32,84% à des concentrations égales respectivement à : 5, 10, 15, 20 et 25 mg.L⁻¹. On remarque ainsi que l'élimination du fenitrothion dépend de sa concentration initiale. Une réduction maximale 71,33 % est

atteinte pendant une durée de 4 jours. Une prolongation de la durée de traitement n'induit pas des augmentations de rétention de l'insecticide.

Nos résultats montrent que l'élimination du fenitrothion est assez appréciable. Les polluants organiques sont introduits usuellement par l'homme et sont des xénobiotiques pour les plantes. En conséquence, il n'existe pas de transporteurs spécifiques à ces composés dans les membranes des plantes. Ils ont tendance à se déplacer à travers et dans les tissus des plantes par une simple diffusion en fonction de leurs propriétés chimiques. Parmi ces propriétés, l'hydrophobicité est l'un des paramètres potentiels responsables de l'élimination de ces produits par les plantes. En effet, les produits chimiques dont le coefficient de partage $\text{Log}(K_{ow})$ dans le mélange octanol-eau est compris entre 0,5 et 3 sont considérés comme hydrophobes et capables de se déplacer rapidement à travers les membranes (bicouches lipidiques) tout en restant soluble dans l'eau. [101]

Le coefficient de partage du fenitrothion utilisé est dans les environs de 3,3, favorisant ainsi un transfert de ce composé toxique à l'intérieur de la cellule. Cette propriété explique ainsi la rétention maximale observée aux quatrièmes jours.

En plus il est tout à fait correct de tester la possibilité de mise en œuvre de la phytoremédiation dans des conditions de non toxicité élevée, ce qui devrait permettre d'un point de vue biochimique de mettre en évidence la dégradation ou la transformation du produit xénobiotique par les mécanismes de la plante au sein des compartiments spécifiques du végétal.

4.7. Résultats du dosage de la catalase :

L'analyse de l'activité de la catalase est réalisée plus pour un objectif écotoxicologiques que de mise au point d'un protocole de phytoremédiation. Toutefois elle permet de confirmer des effets inhibitions de certains mécanismes dans la plante exposée dans notre cas au fenitrothion. Elle permettrait théoriquement de distinguer une éventuelle relation entre l'activité des enzymes de détoxification (catalase) et le principe de la phytoremédiation.

Cette analyse nécessite une série d'étapes préliminaires afin d'aboutir au résultat souhaité.

Les Résultats relatifs au dosage de la catalase au niveau de la lentille d'eau sont représentés dans la (figure 4.14).

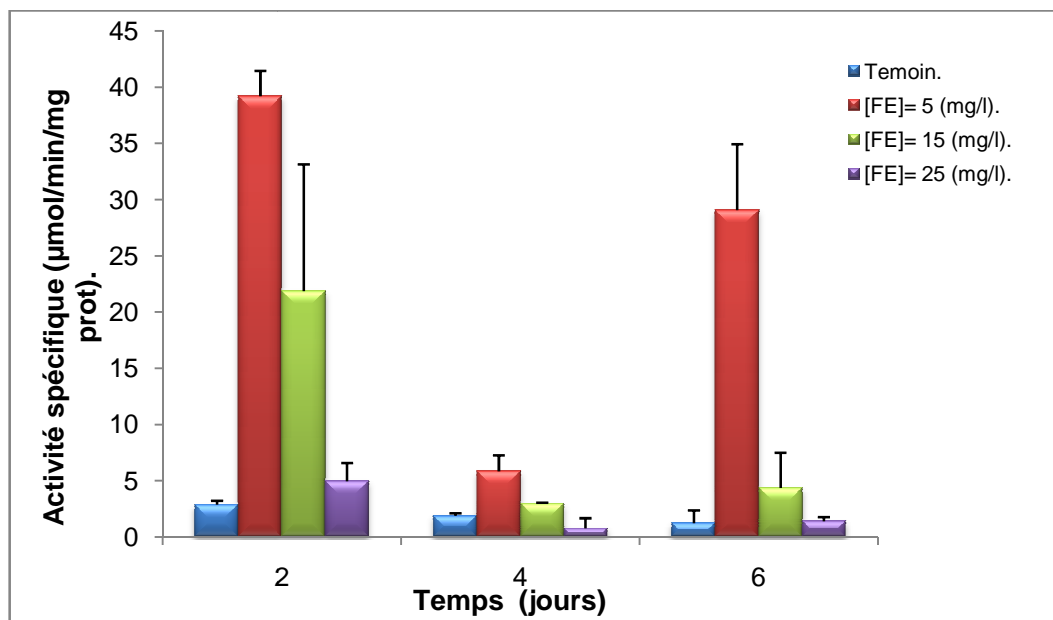


Figure 4.14 : Activité spécifique de la catalase après l'exposition de *L.gibba* au fenitrothion en fonction du temps. (Valeurs moyennes \pm écart type ; n=3).

La catalase effectue divers fonctions physiologique, principalement le déménagement du peroxyde d'hydrogène généré durant la photorespiration, lignification et le balayage du peroxyde d'hydrogène généré au cours du métabolisme des acides gras. (Van Breusegem 2001). Cette enzyme est couramment utilisée comme marqueurs de stress oxydatif (Teisseire et al. 1999, Teisseire et Guy 2000, Cordova Rosa et al. 2003). [21]

Les résultats de cette étude nous ont permis de détecter les réactions plantes-pesticides induites par le stress oxydatif. L'étude de l'activité CAT, montre que cette dernière est accélérée par le xénobiotique présent dans le milieu, et cela en fonction du temps d'exposition et de sa concentration.

En générale, une augmentation de l'activité CAT est observée pour la *lemna* exposée au fenitrothion. Comparativement aux témoins, ces derniers ont

montré une faible activité de la catalase pendant les jours d'essais, par contre l'exposition au fenitrothion a entraîné une augmentation de l'activité de la catalase et cela pendant les 6 jours d'essai. (Fig 4.14). Ainsi, les activités les plus importantes mesurées aux 2eme et 6eme jours pour une concentration de 5 mg.L^{-1} sont respectivement $(39,21 \pm 2,25) \mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{Prot}$ et $(29,08 \pm 5,86) \mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{Prot}$. Une diminution hautement significative de l'activité catalase à été mesurée au quatrième jour d'exposition au fenitrothion $(5,86 \pm 1,41)$, $(2,98 \pm 0,08)$ et $(0,78 \pm 0,89) \mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{prot}$ ce qui correspond respectivement à 5, 15, 25 mg.L^{-1} du xénobiotique, dans cette même période de temps qui correspond à la meilleure rétention et les taux les plus intéressants d'élimination du fenitrothion. La biomasse a augmentée de deux fois à peu près.

D'après Krieger-Liszkay et Rutherford, (1998) et Ikeda et al, (2003), la majorité des pesticides agissent directement sur l'activité photochimique du PSII en bloquant certains électrons, par conséquent, ils diminuent la formation de L'ATP et du NADPH et induisent des effets néfastes sur la croissance et le développement des plantes. [102,103]

Dans cette étude on a pu montrer qu'une partie de la quantité de pesticide disparue du milieu était absorbée par la plante. Cette absorption est un pré-requis pour avoir un contact rapproché entre le polluant et les enzymes localisées dans le cytosol des cellules végétales. La catalase intervient ici comme enzyme du stress oxydatif. Ce genre d'étude permet de distinguer une éventuelle relation entre l'activité des enzymes de détoxification par le principe de la phytoremédiation chez les plantes aquatiques et par conséquent leurs potentiels à éliminer les pesticides du milieu.

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Notre étude avait pour objectifs d'évaluer la tolérance et la capacité d'élimination d'un pesticides qui est une insecticide organophosphoré par une plante aquatique. Dans un premier la tolérance de la plante vis à vis du fenitrothion a été examinée. Dans cette optique, nous avons suivi quelques paramètres de toxicités dont le principal est le taux de croissance de la lentille d'eau *Lemna gibba*. Des taux de croissance maximale de la plante pour les différentes concentrations 5, 10, 15, 20 et 25 mg.L⁻¹ de pesticide sont respectivement : 87,5; 92,5; 87,5; 80 et 72,5% et sont atteint au bout du quatrième jour d'expérience, ce qui démontre une atteinte de la croissance par une toxicité modérée du fenitrothion.

Nous avons alors montré les capacités d'élimination du pesticide par la plante aquatique présente dans les milieux contaminés et par conséquent il a été montré que la présence des macrophytes permet une élimination du contaminant (fenitrothion) après 4 jours d'exposition. Les résultats obtenus révèlent que la concentration résiduelle en fenitrothion dans le milieu diminue de façon remarquable en fonction du temps. La réduction est observée dès les premiers jours pour les différentes concentrations appliquées. Les taux d'éliminations du fenitrothion les plus importants correspondent aux quatrième jours, où une réduction maximale de 71,33 % pour une concentration de 15 mg.L⁻¹ est enregistrée. Ces rendements intéressants et appréciables, nous ont conduits à sélectionner la lentille d'eau *lemna gibba* comme matériel biologique pour la suite des travaux expérimentaux.

Dans la dernière partie, on s'est intéressé aux mécanismes de détoxification du pesticide dans la plante. En effet, la question d'un mécanisme de détoxification du fenitrothion a été évoquée. Il s'agit donc de mesurer l'activité enzymatique (Catalase) potentiellement mise en jeu lors de la présence lors d'un stress oxydative dû à la présence du xenobiotique fenitrothion.

Les lentilles d'eau ont été testées pour cette fin. L'intérêt qu'occupent ces végétaux aquatiques dans l'épuration des eaux est dû principalement à leurs

biomatériaux (polysaccharides, protéines et lipides) riches en fonctions amines, alcools, sulfates, et groupements carboxyliques. *Lemna* est l'espèce la plus étudiée dans le traitement des effluents chargés en espèces polluantes.

En perspective nous proposons que l'utilisation de plantes aquatiques dans le cadre de la phytoremédiation de pesticides semble prometteuse. Suite à ce travail, la compréhension des mécanismes régissant cette ingénierie verte et son optimisation ouvrent de nombreuses perspectives :

- La plante a montré, individuellement, de bonnes performances dans l'élimination de pesticide étudié. Une étude sur le mélange des plantes les plus performantes permettrait d'estimer leur action synergique ou antagoniste dans l'élimination des pesticides du milieu, et leur capacité à se développer ensemble.
- Interaction plantes/micro-organismes : Les expériences réalisées avec les macrophytes n'ont pas été réalisées dans des conditions axéniques, il ne faut donc pas négliger la part de l'élimination des pesticides due à la présence de micro-organismes et à leurs interactions avec les plantes. En effet, ces derniers sont connus pour leur capacité à dégrader les pesticides et autres composés organiques seuls ou en collaboration avec les plantes
- Mise en place sur le terrain : la mise en place des plantes au niveau des bassins. Pour cette application, il faudrait deux bassins de rétention des eaux de ruissellement (un bassin témoin « sans plantes » et un autre « végétalisé ») ayant les mêmes caractéristiques. De plus, cette étude doit inclure des analyses régulières des eaux pour évaluer l'efficacité d'élimination des pesticides due à la présence des plantes.

Au cours de ce travail et à défaut de certaines possibilités techniques, nous pensons que ces résultats font l'objet d'une contribution préliminaire dans la mise en évidence de l'ordre de grandeur des rendements de fixation du fénitrothion par *Lemna gibba*.