



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة باجي مختار - عنابة  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT ES SCIENCE

Spécialité: BIOLOGIE VEGETALE

Intitulé

**Modifications Physiologiques et Biochimiques  
observées chez les plantes en C4 soumises à un  
stress métallique (Cd)**

Presentée par: BADACHE Hakim

**Membre de Jury:**

M. DJEBAR Med Reda (Pr.)	Président	Université Badji Mokhtar, Annaba
M <sup>me</sup> . SBARTAI Hana (MCA.)	Directrice de thèse	Université Badji Mokhtar, Annaba
M. SOLTAN Mahmoud (Pr.)	Examineur	Université El-Tarf
M. BENSAID Rabeh (Pr.)	Examineur	Université 20 Aout 55, Skikda
M <sup>me</sup> . ALLIOUA Amel (Pr.)	Examinatrice	Université, USTO Oran
M. CHAGRA Ali (M.C.A)	Examineur	Université Badji Mokhtar, Annaba

Année universitaire: 2014 / 2015

## Remerciements

Au terme de ce travail, Je tiens à exprimer ma respectueuse gratitude et mes vifs remerciements tout d'abord à Madame le Docteur SBARTAI Hana, directrice de thèse, avec qui j'ai eu la chance de bénéficier de son profond savoir. Depuis l'époque où elle me confia le sujet, elle n'a pas cessé un seul instant de suivre de très près mon travail. Je la remercie vivement pour ses encouragements, son aide si précieuse et son entière disponibilité.

J'exprime mes plus sincères remerciements à Monsieur le Professeur DJEBAR Mohammed Reda, pour avoir accepté de présider ce jury. Que vous ayez mon entière reconnaissance.

Ma plus profonde gratitude au Professeur SOLTANE Mahmoud de l'Université de El-Tarf, d'avoir bien voulu participer à ce jury.

Mes plus vifs remerciements à Madame le Professeur ALLIOUA Amel de l'Université d'Oran, pour l'immense privilège qu'elle me fait en acceptant d'examiner ce travail.

Je suis reconnaissant à Monsieur le Professeur Bensaid Rabeh de l'Université de SKIKDA, d'avoir bien voulu participer à ce jury.

Mes plus vifs remerciements à Monsieur le Docteur Chagra Ali de l'université de Annaba, pour l'attention qu'il portera à mon travail.

Au cours des travaux effectués, j'ai eu recours à plusieurs reprises aux services de Madame Eleni MANOUSAKI, Chercheur postdoctoral au « Laboratory of Biochemical Engineering & Environmental Biotechnology » en Grèce, qui n'a jamais cessé de m'aider, de m'orienter et de me fournir les éléments nécessaires à la réalisation de ce travail. Ainsi que Mr Jacques Bourguignon, Directeur de recherche au laboratoire de physiologie végétale et cellulaire CEA Grenoble, qui m'a aidé dans la

rédaction de mon article. Qu'ils veuillent trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

J'exprime toute ma sympathie à ceux qui, à divers titres, m'ont aidé à réaliser ce travail, en particulier :

- ❖ GUESMIA M. Technicien supérieur, pour avoir mis à ma disposition le matériel végétal nécessaire pour mon expérimentation ;
- ❖ LABADI R. Ingénieur de laboratoire, pour avoir accepté de me doser le cadmium ;
- ❖ ETSOURI S. Maître assistant à l'université d'El-Tarf, pour son aide précieuse dans le domaine de l'informatique et dans le traitement statistique des données ;
- ❖ Amrani R. Maître assistant à l'université de Khemis-Miliana, Marok A. Maître de conférence à l'université de Khemis-Miliana et Filali M.B., maître assistant à l'université de Blida. Ils n'ont jamais cessé de m'aider malgré leurs nombreuses taches.

Je voudrais exprimer toute ma gratitude à Fellag M., Maître assistant à l'université de Blida, qui m'a fait bénéficier de sa grande compétence pour mettre en forme ma thèse de Doctorat. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance et vifs remerciements.

Mes remerciements vont aussi à mes étudiants en PFE pour la mise en place du protocole expérimental (la serre et manipulations en laboratoire). Je citerai en l'occurrence Kredideche S., Bouldoume K., Bradaia Z. et Mouzaika S. .

Merci à ma famille et à mes amis qui m'ont beaucoup encouragé lorsque j'en ai eu besoin.

Mes remerciements à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de mon travail.

# Dédicace

*À mes parents*

*À tous les membres de ma famille sans aucune exception.*

## SOMMAIRE

ملخص

Abstract

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

<b>Chapitre I : Introduction générale</b>	8
<b>1. Les métaux lourds</b>	11
1.1. Définition	11
1.2. Origine des métaux lourds	11
1.3. Les métaux lourds : oligoéléments ou éléments toxiques	11
1.4. Toxicité et tolérance des plantes aux métaux lourds	12
1.4.1. Toxicité	12
1.4.2. Tolérance	13
<b>2. Le cadmium</b>	14
2.1. L'élément cadmium	14
2.2. Origines du cadmium dans le sol	14
2.2.1. Origine naturelle	14
2.2.2. Origines anthropogéniques	15
2.2.2.1. Rejets d'origine industrielle	15
2.2.2.2. Les pratiques agricoles	15
▪ Les pesticides et les fongicides	15
▪ L'irrigation	16
▪ Les matières fertilisantes	16

2.3. La toxicité du cadmium et ses risques sur la santé humaine	16
2.4. Les végétaux : principale voie d'entrée du cadmium dans la chaîne alimentaire	18
2.5. Les principaux paramètres physico-chimiques influençant la biodisponibilité du cadmium dans le sol	18
2.5.1. Formes du cadmium dans le sol	18
2.5.2. Le pH	19
2.5.3. La matière organique	19
2.5.4. Effet des compétitions ou des synergies entre éléments chimiques	20
2.5.5. Effet de la température du sol	21

<b>3. Interactions entre le cadmium et les plantes</b>	21
3.1. Phytotoxicité du cadmium	21
3.1.1. Effet du cadmium sur la croissance	22
3.1.2. Effet du cadmium sur le statut hydrique	23
3.1.3. Effets du cadmium sur la nutrition minérale	24
3.1.4. Effet du cadmium sur la photosynthèse	24
3.1.5. Induction d'un stress oxydatif par le cadmium	25
3.2. Mécanismes de défense induits par le cadmium	26
3.2.1. Absorption	27
3.2.2. La chélation et la séquestration du cadmium	29
3.2.3. Transfert et translocation	31
3.2.4. Le Système enzymatique antioxydant	32
3.3. Autres stratégies de défense	33
3.3.1. Accumulation des métaux dans les feuilles âgées	33
3.3.2. Biosynthèse d'éthylène	34
3.3.3. Les acides aminés	34
3.3.4. Transporteurs membranaires	34
3.4. Prélèvement et accumulation du cadmium	34
3.4.1. Prélèvement du cadmium	35

3.4.2. Accumulation du cadmium	36
--------------------------------	----

<b>4. Utilisation des halophytes en phytoremédiation</b>	37
4.1. La phytoremédiation	37
4.1.1. Définition	37
4.1.2. Les différents procédés de la phytoremédiation	37
4.1.2.1. Phytovolatilisation	37
4.1.2.2. Rhizofiltration	37
4.1.2.3. Phytostabilisation	38
4.1.2.4. Phytodégradation	38
4.1.2.5. Phytoextraction	38
4.1.3. Plantes accumulatrices et hyperaccumulatrices	38
4.2. Cas des halophytes	41
4.3. Mécanismes de tolérance au stress abiotique chez les halophytes	44
4.3.1. La phytoremédiation vis-à-vis des métaux lourds	46
4.3.2. La phytoremédiation vis-à-vis des sols salins	47

<b>5. Les plantes du genre <i>Atriplex</i></b>	49
5.1. Origine et distribution	49
5.2. L'Espèce <i>Atriplexnummularia</i>	49

<b>6. Objectifs du travail</b>	52
--------------------------------	----

<b>Chapitre II : Matériels et méthodes</b>	53
--	----

2.1. Conditions de culture	54
2.2. Le dispositif expérimental	54
2.3. Techniques analytiques	55
2.3.1. Paramètres de Croissance	55
2.3.1.1. Détermination de la matière sèche	55
2.3.1.2. Détermination de l'indice de succulence	55

2.3.2. Paramètres Physiologiques	56
2.3.2.1. Extraction et dosage des sucres solubles totaux	56
2.3.2.2. Dosage des chlorophylles	56
2.3.3. Analyse de l'accumulation du cadmium	57
2.3.3.1. Détermination de la quantité de Cd excrétée sur la surface de feuilles	57
2.3.3.2. Dosage du Cd accumulé par les plantes	57
2.4. Analyse statistique	57

<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	<b>58</b>
---	-----------

3.1. Paramètres de croissances	59
3.1.1. Impact du cadmium sur la longueur moyenne des tiges d' <i>Atriplex nummularia L.</i> en fonction de la salinité du milieu	59
3.1.2. Impact du cadmium sur la longueur moyenne des racines d' <i>Atriplex nummularia L.</i> en fonction de la salinité du milieu	60
3.1.3. Impact du cadmium sur le volume des racines d' <i>Atriplex nummularia L.</i> en fonction de la salinité du milieu	60
3.1.4. Impact du cadmium sur la biomasse d' <i>Atriplex nummularia L.</i> en fonction de la salinité du milieu	62
3.1.5. Impact du cadmium associé à un stress salin sur l'indice de succulence chez <i>Atriplex nummularia L.</i>	64
3.2. Les Paramètres physiologiques	66
3.2.1. Impact d'un traitement au cadmium associé à un stress salin sur la synthèse chlorophyllienne chez <i>Atriplex nummularia L.</i>	66
3.2.2. Impact d'un traitement au cadmium associé à un stress salin sur la teneur en sucres solubles chez <i>Atriplex nummularia L.</i>	68
3.3. Analyse de l'accumulation du cadmium	60
3.3.1. Accumulation du cadmium chez <i>Atriplex nummularia L.</i> en fonction de la salinité du milieu.	70

3.3.2. Détermination de la quantité du cadmium excrétée à la surface des feuilles d' <i>Atriplex nummularia</i> L.	72
<b>Conclusions et perspectives</b>	74
<b>Références bibliographiques</b>	78
<b>Annexes</b>	105

## ملخص

تندرج هذه الدراسة في إطار اختبار مدى استطاعة نبات القطف (*Atriplex nummularia* L) المقاوم للوسط المالح و الجاف ، للوسط التُّرْبُوي الغني بالمعادن الثقيلة ، عرّضنا نباتات القطف إلى خليط من الكاديوم ( $20 \mu\text{M}$ ) مع جملة من الزيادات في تركيز كلوريد الصوديوم NaCl [ $0 ; 34,2 \text{ mM}$  ( $2 \text{ g/l}$ ) et  $102,6 \text{ mM}$  ( $6 \text{ g/l}$ )] ، بعد تحليل القياسات الفسيولوجية مثل المادة الجافة وكمية اليخضور الكلي ، فإننا اهتمنا بتتبع كمية المعدن في النبتة، و لقد حددت كمية الكاديوم المكسرة في مختلف أجزاء النبتة، و كذلك الكمية المفروزة عن طريق الأوراق، وتحصلنا على نتائج تبين أن النبتة *Atriplex nummularia* L. ، مقاومة للملوحة ، و يمكنها أيضا أن تسمح بتكديس الكاديوم Cd، في حين أن كمية الكاديوم المتجمعة في جذور النبات ، لا تختلف مهما كانت كمية كلوريد الصوديوم موجودة في الوسط، وقد لوحظ وجود عملية إفراز لمعدن الكاديوم Cd على سطح الأوراق ، عن طريق غدد متخصصة (glandes excrétrices) توجد على مستوى اوراق النبات ، هذه عملية إفراز خاصة بنبات القطف للكاديوم ، تسمح لنا للنظر بهتمام لهذا النبات الذي ينتمي إلى النباتات الملحية، كمرشح محتمل لاستخدامه في استراتيجيات تنقية التربة الملوثة بالمعادن الثقيلة و هذه الطريقة معروفة باسم "phytoextraction" .

**كلمات المفتاحية:** *Atriplex nummularia*، الكاديوم، الملوحة، تكديس، phytoextraction.

## Résumé

Ce travail s'inscrit dans la perspective de tester si l'espèce halo-xérophyte *Atriplex nummularia* L. qui est un arbuste vivace de métabolisme de type C4 présente, en plus de sa résistance aux stress hydrique et salin, une résistance aux stress métalliques. Des plantes d'*Atriplex nummularia* ont été exposées à un mélange de cadmium (20 µM) et une gamme de concentrations croissantes de NaCl [0 ; 34,2 mM (2 g/l) et 102,6 mM (6 g/l)]. Après avoir analysé certains paramètres physiologiques tels que la quantité de matière sèche et la quantité de chlorophylles totales, nous nous sommes intéressés au devenir du métal dans la plante. Nous avons déterminé la quantité de cadmium accumulé dans les différents organes de la plante ainsi que la quantité excrétée par les feuilles. Les résultats obtenus montrent que la plante d'*Atriplex nummularia* tolérante au sel peut également accumuler du cadmium. Alors que la teneur en cadmium des racines ne varie pas, quelle que soit la quantité de NaCl présente dans le milieu, celle des feuilles augmente avec l'ajout de sel et ceci de manière proportionnelle à la quantité de NaCl dans le milieu. L'excrétion du cadmium par les glandes excrétrices, présentes au niveau des feuilles, a été observée et quantifiée. Cette caractérisation des propriétés tout à fait originales d'*Atriplex nummularia* vis-à-vis du cadmium nous permet de considérer cette plante xéro-halophyte comme un nouveau candidat potentiel pour son utilisation dans des stratégies de phytoremédiation des sols contaminés par les métaux lourds et plus spécifiquement en « phytoextraction ».

**Mots-clés:** *Atriplex nummularia*, cadmium, salinité, accumulation, phytoextraction.

## Abstract

This work is in the perspective to test if the species halo-xérophyte *Atriplex nummularia* L. which is a perennial shrub type C4 metabolism present in addition to its resilience to water and salt stress, resistance to metal stress. *Atriplex nummularia* plants were exposed to a mixture of cadmium (20  $\mu\text{M}$ ) and a range of increasing concentrations of NaCl [0; 34.2 mm (2 g / l) and 102.6 mm (6 g / l)]. After the analysis of physiological parameters such as dry matter and the amount of total chlorophylls, we are interested the become the metal in the plant. We have determined the amount of cadmium accumulated in the different organs of the plant and the amount excreted by the leaves. The results obtained show that the plant *Atriplex nummularia* salt tolerant can also accumulate cadmium. whereas the root cadmium content does not vary whatever the amount of NaCl present in the medium, that of the leaves increases with the addition of salt and manner proportional to the amount of NaCl in the medium. The excretion of cadmium by excretrices glands present at leaf level was observed and quantified. This characterization of the properties altogether original *Atriplex nummularia* vis-à-vis cadmium allows us to consider this xero-halophyte plant as a potential new candidate for use in phytoremediation strategies of soil contaminated by heavy metals and more specifically "phytoextraction".

**Keywords:** *Atriplex nummularia*, cadmium, salinity, accumulation, phytoextraction.

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

<b>APX</b>	Ascorbate peroxydase
<b>CAT</b>	Catalase
<b>Cd</b>	Cadmium
<b>Chla</b>	Chlorophylle a
<b>Chl b</b>	Chlorophylle b
<b>CE</b>	Conductivité Electrique
<b>DO</b>	Densité Optique
<b>EDTA</b>	Acide éthylène-diamine-tétraacétique
<b>GPOX</b>	Gaïacol peroxydase
<b>GPX</b>	Glutathion peroxydase
<b>H.C.D.S</b>	Haute Commissariat du Développement de la Steppe
<b>ICP-AES</b>	Inductivelycoupled plasma-atomicemission spectrometry
<b>ICP-MS</b>	Spectrométrie de masse couplée au plasma par induction, de l'anglais "Inductively coupled plasma-mass spectrometry"
<b>MF</b>	Matière fraîche
<b>MS</b>	Matière sèche
<b>MTs</b>	Métallothionéines
<b>Pas</b>	Polyamines
<b>Pb</b>	Plomb
<b>PCn</b>	Phytochélatines
<b>POD</b>	Peroxydase
<b>ROS</b>	Formes réactives de l'oxygène, de l'anglais« Reactive Oxygen Species»
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>ZHF</b>	Zinc Homeostasis Factor
<b>ZIP</b>	ZRT-IRT-like Proteins
<b>ZNT</b>	Zinc transporter
<b>ZRT</b>	Zinc Regulated Transporter

## LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1	Mobilité des métaux dans le sol.	19
2	Voies de prélèvements des métaux par les plantes.	28
3	Principaux effets du cadmium sur la physiologie des plantes et réponses des plantes au cadmium.	30
4	Principales réactions enzymatiques permettant l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS): superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), cycle ascorbate-glutathion, et cycle de la glutathion peroxydase (GPX).	33
5	Catégories de plantes poussant sur des sols métallifères.	41
6	Aspect d'une feuille d' <i>Atriplex lentiformis</i> traitée par 5 g/l NaCl, portant des trichomes gonflés de sels.	43
7	Des cristaux de sels du cadmium et du plomb sécrétés par les glandes excrétrices sur les feuilles de <i>Tamarix smyrnensis</i> .	47
8	Plantule régénéré (a) et plante adulte (b) d' <i>Atriplex nummularia</i> .	50
9	Rameau feuillu avec inflorescence d' <i>Atriplex nummularia</i> .	51
10	Variation de la longueur moyenne des tiges en (cm) de plantes d' <i>Atriplex nummularia</i> L. cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 $\mu$ M de CdCl <sub>2</sub> ) en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l).	59
11	Variation de la croissance racinaire en (mm) de plantules d' <i>Atriplex nummularia</i> L. cultivés sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 $\mu$ M de CdCl <sub>2</sub> ) en présence de doses croissantes de	60

NaCl (0, 2 et 6 g/l).

- 12 Variation du volume racinaire en (cm<sup>3</sup>) de plantules d'*Atriplex nummularia* L. cultivés sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 µM de CdCl<sub>2</sub>) en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). 61
- 13 Variation de la biomasse sèche (g/plante) des parties aérienne et racinaire de plantes d'*Atriplex nummularia* L. cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 µM de CdCl<sub>2</sub>) en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). 63
- 14 Variation de l'indice de succulence (MF/MS) des parties aérienne et racinaire de plantes d'*Atriplex nummularia* L. cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 µM de CdCl<sub>2</sub>), en présence de doses croissantes de NaCl (0,2 et 6 g/l). 65
- 15 Variations des teneurs en chlorophylles a, b et totales (mg/g) dans les feuilles d'*Atriplex nummularia* cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 µM de CdCl<sub>2</sub>) en présence de concentrations croissantes de NaCl (0,2 et 6 g/l). 67
- 16 Evolution des teneurs en sucres solubles totaux des tissus de la partie aérienne et de la partie racinaire de plantules d'*Atriplex nummularia* cultivés sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 µM de CdCl<sub>2</sub>) en présence de concentrations croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). 68
- 17 Quantité du Cadmium excrétée à partir du tissu des feuilles d'*Atriplex nummularia* traités avec 20 µM de Cd en présence de concentrations croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). 72

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau		Page
1	Concentration en éléments traces dans les parties aériennes de plantes (mg/kg MS).	21
2	Caractéristiques de différents procédés utilisés en phytoremédiation	41
3	Dispositif expérimental.	55
4	Dosage du cadmium dans les tissus d' <i>Atriplex nummularia</i> cultivé pendant cinq semaines sur un sol contaminé ou non par 20 $\mu\text{M}$ de Cd en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l).	71

# Chapitre I: Introduction Générale

Concilier le développement des activités humaines et le respect de l'environnement est un enjeu majeur. La prise en compte tardive des conséquences engendrées par certaines activités humaines a conduit à l'accumulation de substances toxiques, perturbant les équilibres fragiles de nombreux écosystèmes. Depuis le début de la révolution industrielle, la pollution de l'environnement, y compris le sol, est accélérée de façon spectaculaire (**Yanai et al., 2006**). Parmi les substances qui contribuent à la pollution anthropique de la biosphère, les éléments traces métalliques sont parmi les plus toxiques, quatre d'entre eux figurent parmi les dix premiers polluants de la 'Priority List of Hazardous Substances' établie par The Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act (CERCLA, <http://www.atsdr.cdc.gov/SPL/index.html>). Le cadmium (Cd), septième de cette liste, est un métal lourd relativement rare dans l'écosystème (**McBride, 1995**) et particulièrement toxique pour l'homme (**Moulis et al., 2014**).

De nombreuses études ont montré que la présence d'éléments traces métalliques et plus particulièrement le Cd dans le milieu de culture peut se traduire, au-delà d'une certaine limite, par l'apparition de symptômes d'intoxication, accompagnés d'une inhibition de la croissance pondérale des plantes, d'une réduction de l'activité photosynthétique et d'une diminution de l'absorption des nutriments (**Zhou et Qiu, 2005 ; Clemens, 2006 ; Verbruggen et al., 2009 et DalCorso et al., 2013**). L'utilisation d'approches 'omiques' a permis également de mettre en évidence ou de confirmer les mécanismes cellulaires et moléculaires perturbés ou exacerbés par les éléments traces métalliques et plus particulièrement le Cd (**Herbette et al., 2006 ; Le Lay et al., 2006 ; Sarry et al., 2006 ; Villiers et al., 2011 ; Doustaly et al., 2014 et Ovecka et Takac, 2014**).

Les métaux lourds sont des éléments non biodégradables et doivent par conséquent être extraits des sites pollués si l'on souhaite les éliminer. Ainsi, la phytoremédiation, technique récente peu onéreuse de dépollution, utilise les plantes pour la décontamination des sols pollués (**Salt, 1998 ; Pilon-Smits, 2005 et Vangrosveld et al., 2009**). La phytoextraction consiste, plus particulièrement, à

extraire les composés métalliques biodisponibles présents dans les sols pour les stocker dans les parties aériennes de la plante. Certaines plantes, dites métalphytes, sont particulièrement intéressantes car elles sont capables de se développer normalement sur des sites fortement contaminés par divers métaux. Certains de ces végétaux, qualifiés d'hyperaccumulateurs, sont capables de stocker en très grandes quantités les métaux dans leurs parties aériennes (**Bani et al., 2007 ; Montarges-Pelletier et al., 2008 et Kraemer, 2010**). Les teneurs peuvent être supérieures à 100  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de matière sèche pour le Cd, supérieures à 1000 pour l'arsenic, cobalt, cuivre, plomb, nickel, sélénium et supérieures à 10000 pour le manganèse et le zinc (**Kraemer, 2010**).

D'autres espèces végétales ont également été testées pour leur capacité d'accumuler des métaux. C'est le cas des plantes de grandes cultures telles que le tournesol (*Helianthus annuus*), le maïs (*Zea mays*), la tomate (*Lycopersicon esculentum*), la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) et le colza (*Brassica napus*) (**Baghour et al., 2001; Rossi et al., 2002; Zoghlami et al., 2006 ; Vamerali et al., 2010 et Sbartai et al., 2012**). Ces plantes ne sont pas capables d'accumuler les métaux autant que les plantes hyperaccumulatrices mais, compte-tenu de leur importante biomasse, certaines sont également utilisées dans des stratégies de phytoremédiation (**Vamerali et al., 2010**). Des études récentes suggèrent que les plantes halophytes peuvent être utiles également dans cette stratégie de décontamination des sols pollués salés ou non (**Lutts et al., 2004 ; Kadukova et al., 2007 ; Kadukova et al., 2008 ; Manousaki et al., 2008; Manousaki et al., 2011**). Des travaux préliminaires réalisés dans diverses régions de la Tunisie ont prouvé que les dépressions salines colonisées par des espèces halophytes, constituent souvent des sites d'accumulation des effluents industriels riches en Cd, nickel et plomb (**Nouari et al., 2002 ; Ghnaya et al., 2005 et Manousaki et al., 2011**).

## 1. Les métaux lourds

### 1.1. Définition

Le terme de métaux lourds est arbitraire et imprécis. Il est utilisé pour des raisons de simplicité et il recouvre des éléments ayant des propriétés métalliques (ductilité, conductivité, densité, stabilité des cations, spécificité de ligand...) et un numéro atomique  $>20$  (**Raskin et al., 1994**). Les métaux lourds sont définis comme étant des éléments chimiques toxiques ayant une densité supérieure à  $5 \text{ g/cm}^3$  (**Elmsley, 2001**). Sous cette appellation figurent des éléments qui, pour certains, sont effectivement des métaux tels que Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Al... mais aussi des métalloïdes tels que As et Se. Ceux-ci sont présents le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces. Les plus toxiques d'entre eux sont le cadmium, l'arsenic, le plomb et le mercure. Ces éléments sont présents naturellement dans la croûte terrestre et dans tout organisme vivant, à des concentrations variables suivant les milieux et les organismes. Selon les textes législatifs, la pollution par les métaux toxiques (METOX) regroupe sept métaux et un métalloïde (chrome, zinc, cuivre, nickel, plomb, arsenic, cadmium et mercure) (**Koller, 2004**).

### 1.2. Origine des métaux lourds

La distribution dans l'environnement procède de deux origines : l'une, naturelle est le résultat de processus géogéniques comme l'érosion, les précipitations géochimiques de roches et de l'eau de source, l'activité volcanique et bactérienne (**Baize et Sterckeman, 2001**); et l'autre, relève des activités anthropogéniques tel que les activités industrielles, les fertilisants et les pesticides, etc.

### 1.3. Les métaux lourds : oligoéléments ou éléments toxiques

Chez les végétaux, si les métaux sont souvent indispensables au déroulement des processus biologiques (oligo-éléments), nombre d'entre eux peuvent s'avérer contaminants pour diverses formes de vie, lorsque leur concentration dépasse un seuil, lui-même fonction de l'état physico-chimique (spéciation) de l'élément considéré. C'est le cas du fer (Fe), du cuivre (Cu), du zinc (Zn), du nickel (Ni), du cobalt (Co), du

vanadium (V), du sélénium (Se), du molybdène (Mo), du manganèse (Mn), du chrome (Cr), de l'arsenic (As) et du titane (Ti) (**Miquel, 2001**). Certains de ces métaux sont aussi impliqués dans les processus moléculaires tels que le contrôle de l'expression des gènes, la biosynthèse des protéines, des acides nucléiques, des substances de croissance, de la chlorophylle et des métabolites secondaires, le métabolisme lipidique ou la tolérance au stress (**Rengel, 1999**). D'autres ne sont pas nécessaires à la vie et peuvent être même préjudiciables comme le mercure (Hg), le plomb (Pb), le cadmium (Cd) et l'antimoine (Sb) (**Chiffolleau et al., 2001 ; Kabata-Pendias et Pendias, 2001**). Tous les métaux lourds peuvent, à partir d'une concentration seuil, induire une toxicité chez les plantes. L'exposition excessive aux métaux lourds peut conduire à des effets très néfastes sur la santé humaine. Or les produits végétaux sont à la base de la chaîne alimentaire donc ils contribuent à l'imprégnation de l'homme par ces métaux lourds, d'où l'intérêt d'étudier et de contrôler l'accumulation des métaux lourds dans les végétaux.

#### **1.4. Toxicité et tolérance des plantes aux métaux lourds**

Certains éléments métalliques sont essentiels aux organismes vivants à de faibles concentrations. Mais, ils agissent à de fortes concentrations comme un facteur de stress qui entraîne une modification de la réaction physiologique. Le terme « **sensibilité** » décrit les effets du stress, qui peuvent aller jusqu'à la mort de la plante. Par opposition, le terme « **résistance** » fait référence à la réaction de la plante qui lui permet de survivre face au stress métallique et d'assurer sa descendance (**Levitt, 1980**).

##### **1.4.1. Toxicité**

Les symptômes de toxicité associés aux métaux lourds sont peu différents de ceux produits par différents types de stress. Ils peuvent être classés en deux catégories: les symptômes visibles et les symptômes uniquement mesurables ; leur importance étant fonction de la mobilité du métal à l'interface sol-plante et à l'intérieur de la plante, mobilité qui détermine la concentration endogène du métal. L'effet le plus habituel et le moins spécifique des métaux lourds consiste en une réduction de la croissance des différentes parties de la plante. Selon l'importance du stress, les feuilles

peuvent présenter une chlorose due à la fois à une perte de chlorophylle, à une relative augmentation des caroténoïdes et à une déficience en fer (**Romanowska, 2002**). Dans les cas les plus sévères, une apparition de tâches nécrotiques est observée (**Fodor, 2002**). Les métaux induisent également un abaissement de la photosynthèse qui résulte soit d'un effet direct sur le transport des électrons et les enzymes du cycle de Calvin (en particulier de la Rubisco) soit d'un effet indirect, en raison d'une diminution de la teneur en chlorophylle (**Stobart et al., 1985 ; Van Assche et Clijsters, 1986 ; Chatterjee et Chatterjee, 2000 ; Mysliwa-Kurdziel et Strzalka, 2002**).

#### 1.4.2. Tolérance

Un nombre restreint de plantes se révèlent capables de se développer sur des sols fortement contaminés par les métaux lourds. C'est en 1885 que le botaniste allemand Baumann observa que certaines espèces accumulaient ainsi dans leurs feuilles des quantités extraordinairement élevées de zinc. Ces espèces rencontrées sur des sols naturellement riches en éléments métalliques ont été utilisées comme indicateurs lors de prospections minières. Certains de ces végétaux, qualifiés d'hyperaccumulateurs, sont capables de stocker en très grandes quantités les métaux dans leurs parties aériennes (**Bani et al., 2007 ; Montarges-Pelletier et al., 2008 et Kraemer, 2010**). L'étude de ces plantes résistantes, par leurs capacités de détoxification, d'immobilisation ou d'absorption des métaux lourds, pourrait donc constituer un outil intéressant, non seulement pour estimer les risques de transfert potentiel des métaux lourds au sein de l'écosystème (**Martin et al., 1996**), mais aussi comme outil de réhabilitation des sols (**Sbartai et al., 2012**). Ces plantes utilisent alors des mécanismes spécifiques de défense pour éliminer les métaux ou pour les rendre moins ou non disponibles afin de réduire leurs toxicités. Deux stratégies sont ainsi observées : l'exclusion qui consiste à éviter l'absorption des métaux, présents à concentrations élevées dans le sol et, l'accumulation voire l'hyperaccumulation, qui se traduit au contraire par une absorption importante des métaux, qui se réalise également avec de faibles concentrations en métal dans le sol. En outre, quelques plantes tolèrent les métaux en ayant une faible vitesse de translocation vers les parties aériennes, effectuant ainsi une protection de leur photosynthèse (**Aoun, 2009**).

La tolérance aux métaux peut être assurée par plusieurs mécanismes différents, à savoir par une chélation ou précipitation avec des ligands à haute affinité, localisés sur la paroi cellulaire ou à l'intérieur du cytoplasme (formation de complexes avec des peptides, des acides organiques ou des ions inorganiques), par séquestration du métal dans la vacuole des cellules foliaires ou des trichomes, ou par exclusion ou excrétion active du métal (**Lindberg et Greger, 2002**). Il en résulte alors que le métal ne peut interférer avec les réactions métaboliques sensibles de la plante.

## 2. Le cadmium

### 2.1. L'élément cadmium

Le cadmium, découvert en 1817 par le chimiste allemand **Stohmeyer** est un métal malléable d'aspect blanc bleuâtre, qui présente une grande résistance à l'oxydation et une bonne conductibilité électrique (**Juste et al., 1995**). Le cadmium élémentaire a un numéro atomique de 48 et une masse atomique de 112,4 g/mol. Le cadmium se trouve souvent associé dans les roches aux éléments du même groupe, comme le zinc et le mercure. La valence  $Cd^{2+}$  est la valence la plus souvent rencontrée dans l'environnement et est vraisemblablement la seule valence du cadmium dans les systèmes aqueux (**McLaughlin et Singh, 1999**). Aucune fonction biologique n'est connue pour le cadmium (**Pokorny et al., 2004**). En revanche, ses propriétés physiques et chimiques, proches de celles du zinc et du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus.

### 2.2. Origines du cadmium dans le sol

#### 2.2.1. Origine naturelle

Naturellement, le cadmium n'est pas très abondant dans la croûte terrestre. Dans les sols non pollués, le contenu en cadmium est généralement entre 0,1 et 2 ppm et la plupart du temps il est inférieur à 1 ppm (**Kabata-Pendias et al., 2001**). Les roches d'origine sédimentaire contenant davantage de cadmium (0,3 à 11 mg/Kg) que les roches métamorphiques (0,1 à 1 mg/Kg) ou éruptives (0,1 à 0,3 mg/Kg). Les gisements sédimentaires jouent un rôle déterminant dans l'accumulation du cadmium,

avec dans certains sites, des teneurs pouvant atteindre 300 mg/Kg, par exemple dans les minerais phosphatés du Nord Ouest des USA (**Juste et al., 1995**).

## **2.2.2. Origines anthropogéniques**

Les pratiques humaines (agricoles ou industrielles) conduisent aussi à l'enrichissement des sols en cadmium.

### **2.2.2.1. Rejets d'origine industrielle**

Le rejet des déchets industriels contribue aussi à la pollution des sols et des eaux par le cadmium. Les retombées atmosphériques provenant de l'activité industrielle et du trafic urbain contribuent à la pollution des sols et des eaux de surface et souterraines. Ces retombées représentent une source principale de contamination par le cadmium dans les zones urbaines (**He et al., 2005**). Il s'agit essentiellement du cadmium renfermé dans des déchets industriels variés stockés sur des anciennes friches industrielles ainsi que le cadmium contenu dans les produits en fin de vie comme les batteries et les piles à Cd/Ni ou de celui existant dans des effluents liquides issus des usines.

### **2.2.2.2. Les pratiques agricoles**

L'utilisation massive de fertilisants (à cause des impuretés qu'ils renferment) et de pesticides sont responsables de la contamination de notre écosystème.

#### **■ Les pesticides et les fongicides**

Les produits chimiques utilisés en agriculture, tel que les fongicides, les insecticides, les herbicides peuvent contenir plusieurs métaux toxiques comme Cu, Cd, Zn et Pb et peuvent donc contribuer à la contamination des terres agricoles (**He et al., 2005**). Néanmoins, durant ces dernières années, conscients du risque avéré de ces produits chimiques, plusieurs gouvernements ont émis des réglementations limitant la présence de métaux lourds dans ces produits.

### ■ L'irrigation

Les eaux usées, domestiques et industrielles, contiennent souvent du cadmium à des concentrations plus élevées que les eaux normales. L'utilisation répétée d'eaux usées en agriculture peut donc contribuer à l'accumulation de ce métal dans les sols (He et al., 2005).

### ■ Les matières fertilisantes

L'enrichissement des sols en engrais minéraux contaminés par du cadmium, essentiellement les phosphates, constitue une autre source de pollution des sols agricoles. En effet, l'apport d'engrais phosphatés, contribue à l'enrichissement des sols en cadmium dont les teneurs varient selon l'origine géographique des phosphates (Robert et Juste, 1998). Certains engrais phosphatés contiennent plus de 50 mg de Cd / Kg sol sec (Mortvedt et Beaton, 1995). C'est également le cas du Co, Cr, Mn, Ni et Zn présents sous forme d'impuretés dans les engrais (Bourrelrier et Berthelin, 1998). Cependant, les boues d'épuration et les composts des déchets urbains et industriels renferment du cadmium à des niveaux parfois élevés. L'utilisation de ces engrais insuffisamment purs en agriculture est une des causes de la pollution des sols par le cadmium (McBride, 2004).

## 2.3. La toxicité du cadmium et ses risques sur la santé humaine

Le cadmium est un métal lourd relativement rare dans l'écosphère (McBride, 1995). Il fait partie des polluants les plus toxiques et les plus mobiles dans le système sol-plante. Par conséquent, son assimilation et son accumulation dans les tissus des végétaux peuvent constituer des vecteurs de contamination en cas de consommation animale ou humaine (Grant et al, 1995). Les premières observations portant sur la toxicité du cadmium chez l'homme furent faites au Japon vers les années 1950. Le cadmium, provenant d'une mine de montagne avait produit une pollution de la rivière Jinzu dont l'eau était utilisée pour l'irrigation des rizières. L'ingestion orale de ce riz par les habitants aboutissait à une forte accumulation du cadmium dans le corps humain et à une maladie appelée au Japon Itai-Itai (qui signifie «j'ai mal, j'ai mal »),

phrase souvent répétée par les malades) (**Juste et al., 1995 ; Kobayashi et al., 2002 et Uetani et al., 2006**).

Le cadmium présente des risques chez le consommateur. Même à de faibles concentrations, il tend à s'accumuler dans le cortex rénal sur de très longues périodes (50 ans) où il entraîne une perte anormale de protéines par les urines (protéinurie) et provoque des dysfonctionnements urinaires chez les personnes âgées. En fait, le rein semble être l'organe le plus touché par les méfaits du cadmium (**Barbier et al., 2005**). Le cadmium atteint le rein sous la forme de complexe cadmium-métallothionéines. Cependant, il existe plusieurs preuves de la cancérogénicité du cadmium, notamment en ce qui concerne le cancer rénal chez l'Homme (**Il'yasova, 2005**).

Les mécanismes moléculaires de la carcinogenèse induite par le cadmium ne sont pas encore compris. On peut cependant citer que la régulation de la signalisation mitogène est altérée par le cadmium, ainsi que les mécanismes de réparation et d'acquisition d'une résistance apoptotique (**Goyer et al., 2004**). Une augmentation des cas de certains cancers, en particulier des poumons, est observée chez les populations exposées au cadmium (**Waalkes, 2000**). La transformation cellulaire induite par le cadmium et la tumorigenèse sont associées à une activation d'oncogènes et à la production de ROS (**Joseph et al., 2001 et Filipic et Hei, 2004**).

Le cadmium semble interférer avec la voie stéroïdogénique ovarienne. De faibles concentrations de cadmium stimuleraient la biosynthèse ovarienne de progestérone alors que des concentrations élevées la bloqueraient (**Henson et Chedrese, 2004**). Le cadmium pourrait également exercer un puissant effet "œstrogénique" *in vivo* et avoir des effets décelables en provoquant un développement mammaire et utérin à des concentrations comparables à celles mesurées dans l'environnement (**Johnson et al., 2003**).

## 2.4. Les végétaux : principale voie d'entrée du cadmium dans la chaîne alimentaire

Les végétaux sont la principale voie d'entrée dans la chaîne alimentaire. La pollution, à la fois de l'air et des sols, expose les végétaux à des concentrations croissantes de cadmium. En effet, entre 1 et 5% des produits cultivés de certaines espèces végétales dépassent la concentration maximale réglementaire en cadmium (**Mensch et Baize, 2004**). Cependant, la sensibilité à l'égard du cadmium varie suivant les espèces et même les cultivars d'une même espèce (**Inouhe et al., 1994 ; Fodor, 2002 ; Kuldeep et Brar, 2002 et Lindberg et Greger, 2002**). Bien qu'un nombre restreint de plantes tolèrent et/ou accumulent de fortes teneurs de ce métal, toutes les plantes manifestent des symptômes de toxicité qui apparaissent également chez les plantes tolérantes pour de plus fortes concentrations en métal. En raison de sa grande mobilité sol-plante, le cadmium peut être accumulé dans les tissus végétaux ; donc, son transfert à la chaîne alimentaire impose une menace grave et est devenue une préoccupation publique majeure (**Lima et al., 2006 ; Mishra et al., 2006**).

## 2.5. Les principaux paramètres physico-chimiques influençant la biodisponibilité du cadmium dans le sol

La biodisponibilité d'un métal signifie son accessibilité pour les organismes vivants. Plusieurs paramètres physico-chimiques peuvent jouer un rôle important dans la biodisponibilité du Cd dans la solution du sol et donc dans sa biodisponibilité pour les organismes vivants (**figure 1**).

### 2.5.1. Formes du cadmium dans le sol

En l'absence de ligands organiques, les principales formes du cadmium présentes dans la solution du sol sont  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{CdSO}_4^0$ ,  $\text{CdCO}_3$ ,  $\text{CdCl}^+$  et  $\text{CdHCO}_3^+$  (**Sposito, 1989**). Dans les sols calcaires, la faible solubilité du carbonate de cadmium ( $\text{CdCO}_3$ ) limite fortement la concentration de l'ion libre ( $\text{Cd}^{2+}$ ) en solution du sol. Dans ce cas, les carbonates ( $\text{CaCO}_3$ ,  $(\text{Ca}_x, \text{Mg}_y) \text{CO}_3 \dots$ ) constituent également une

phase d'absorption dominante qui contrôle la distribution de l'élément cadmium et sa biodisponibilité dans le milieu (McBride, 1980).

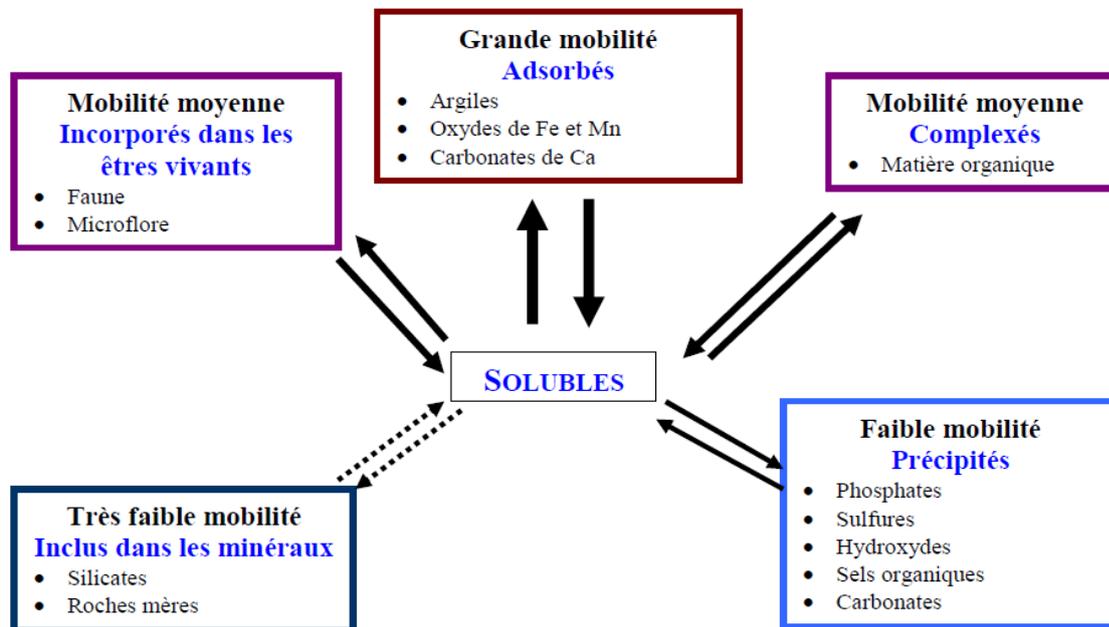


Figure 1: Mobilité des métaux dans le sol (Juste *et al.* 1995).

### 2.5.2. Le pH

Le pH est un des facteurs déterminants de la mobilité des métaux. La diminution du pH favorise la mobilité de la plupart des métaux par la mise en solution des sels métalliques ou la destruction de la phase de rétention. En effet, le pH du sol est l'un des paramètres majeurs influençant la biodisponibilité du cadmium et donc son transfert vers les plantes (Kirkham, 2006). Ceci pourrait être expliqué par le fait qu'à faible pH, les protons  $H^+$  qui sont en concentration élevée dans la solution du sol vont se fixer sur les colloïdes à la place des ions métalliques ce qui augmente la concentration des ions  $Cd^{2+}$  libres accessibles pour l'absorption racinaire.

### 2.5.3. La matière organique

Les composés organiques du sol ont en général une grande affinité pour les métaux du fait de la présence des groupements carboxyliques, phénoliques, alcooliques ou de ligands (Alloway, 1995). Sauvé *et al.* (2003) ont montré que la

rétenion du Cd par le sol était 30 fois plus élevée dans un sol riche en matière organique que dans un sol minéral. Il est ainsi admis qu'un sol riche en colloïdes organiques diminue la biodisponibilité du cadmium.

#### 2.5.4. Effet des compétitions ou des synergies entre éléments chimiques

La biodisponibilité du cadmium est conditionnée par son environnement chimique. En fait, une augmentation de calcium dans le milieu conduit à une diminution de l'absorption de cadmium, suggérant une compétition entre  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Cd}^{2+}$  au niveau de la surface racinaire (Kim et al. 2002 ; Sarwar et al., 2010). Un effet compétiteur du  $\text{Mn}^{2+}$  vis-à-vis du  $\text{Cd}^{2+}$  a également été démontré en solution nutritive (Zornoza et al., 2010). D'autres études démontrent cependant un effet de synergie entre le cadmium et des éléments tels que le zinc ou le calcium (Larbi et al., 2002 ; Ghnaya et al., 2005 ; Sbartai et al., 2012).

Par ailleurs, il est également connu que le chlorure de sodium (NaCl) augmente la biodisponibilité des métaux lourds dans le sol. En effet, les ions chlorures ( $\text{Cl}^-$ ) forment des complexes stables avec les ions  $\text{Cd}^{2+}$ . Ce processus de complexation semble augmenter la mobilité des ions  $\text{Cd}^{2+}$  dans le sol ainsi que leur biodisponibilité (Ghnaya et al., 2007). De ce fait, l'enrichissement du sol en NaCl stimule le prélèvement de Cd par les plantes (Xu et al., 2010). En présence de NaCl, le cadmium est absorbé sous forme ionique ( $\text{Cd}^{2+}$ ) ou sous forme d'un complexe ( $\text{CdCl}_n^{2-n}$ ) (Lopez-Chuken et Young, 2005).

Ces résultats conduisent à remettre en cause les seuils de toxicité définis à partir d'études mono-élémentaires puisque le statut en éléments majeurs peut influencer sur l'accumulation du métal et l'expression de la phytotoxicité. Ils prouvent la nécessité de prendre en compte les cations compétiteurs pour estimer la biodisponibilité et donc le flux de transfert d'un élément.

### 2.5.5. Effet de la température du sol

La température du sol dépend en premier lieu de la météorologie, et donc du climat, mais elle est également liée à l'activité biologique et influence rétroactivement la formation de complexes avec des ligands inorganiques en modifiant l'activité de l'élément en solution (**Deneux-Mustin et al., 2003**). Selon **Haghiri (1974)** l'augmentation de la température favorise le prélèvement du cadmium par les plantes.

## 3. Interactions entre le cadmium et les plantes

### 3.1. Phytotoxicité du cadmium

Certains métaux sont des micronutriments essentiels à la croissance des végétaux (Cu, Co, Fe, Mn, Mo, Ni et Zn) qui peuvent être toxiques à forte concentration alors que d'autres, non essentiels, sont toxiques à faible concentration (Ag, Al, Cd, Cr, Hg, Pb) (**tableau 1**). En excès, les métaux non essentiels provoquent aussi bien des chloroses et nécroses ainsi que des retards de croissance (inhibition de la croissance, racinaire notamment) (**Williams et al. 2000**).

**Tableau 1:** Concentration en éléments traces dans les parties aériennes de plantes (mg/kg MS) (**Kabata-Pendias et Pendias, 1992**)

Elément	Teneurs normales	Teneurs en excès ou Toxiques	Teneurs tolérables pour plantes de grande culture
Cd	0,05 – 0,2	5 – 30	3
Cr	0,1 – 0,5	5 – 30	2
Cu	5 – 30	50	50
Hg	-	0,5 – 1	-
Ni	0,1 – 5	10 – 100	50
Pb	5 – 10	30 – 300	10
Se	0,01 – 2	5 – 30	-
Zn	27 – 150	100 – 400	300

Chez les plantes, le cadmium n'a aucune fonction biologique connue (**Pokorny et al., 2004**), et il est toxique à de faibles concentrations (**De la Rosa et al., 2004**). Sa toxicité est considérée de 2 à 20 fois plus élevée que celle des autres métaux lourds (**Das et al., 1997**). Cependant, la sensibilité à l'égard du cadmium varie suivant les espèces et même les cultivars d'une même espèce (**Inouhe et al., 1994 ; Fodor, 2002 et Kuldeep et Brar, 2002**). Bien qu'un nombre restreint de plantes tolèrent et/ou accumulent de fortes teneurs de ce métal, toutes les plantes manifestent des symptômes de toxicité qui apparaissent également chez les plantes tolérantes pour de plus fortes concentrations en métal.

### 3.1.1. Effet du cadmium sur la croissance

Plusieurs études ont montré que la présence du cadmium dans le milieu de culture peut se traduire, au-delà d'une certaine limite, par l'apparition de symptômes d'intoxication, accompagnés d'une inhibition de la croissance pondérale des plantes (**Ouariti et al., 1997 ; Djebali et al., 2002; Ghnaya et al., 2005; Zorrig et al., 2010**).

Cette inhibition affecte beaucoup plus les organes aériens que racinaires (**Djebali et al., 2005**) affectant ainsi dramatiquement la production de la biomasse. Ces inhibitions s'accompagnent de changements anatomiques, structuraux et ultrastructuraux importants au niveau des feuilles (**Baryla et al., 2001 ; Sandalio et al., 2001**) mais également des racines (**Cosio et al., 2005 ; Patel et al., 2005**). Ces effets peuvent être liés, entre autres, à la perturbation de l'équilibre de certaines hormones de croissance, notamment l'auxine (**Hasenstein et al., 1988**), ainsi qu'à des perturbations de la machinerie photosynthétique, notamment la structure des chloroplastes et la biosynthèse de la chlorophylle (**Mobin et Khan, 2007 ; Ebbs et Uchil, 2008**). **Ekmekci et al. (2008)** ont montré que l'augmentation de la concentration du cadmium dans le milieu, réduit significativement la quantité de la matière sèche des racines et des feuilles chez *Zea mays*. Cependant, la plus grande teneur du cadmium accumulée par le système racinaire, une petite quantité seulement va être transloquée vers les parties aériennes (**Patel et al. 2005; Kovacik et al. 2006;**

**Ekmekci et al. 2008; Liu et al. 2007; Singh et al. 2008; Gill et al. 2011**). Il est important de noter que le cadmium n'affecte pas la croissance de toutes les plantes avec la même sévérité. En effet, sur des sites très contaminés en métaux lourds, et en particulier en cadmium, certaines espèces végétales telles que *Arabidopsis halleri* et *Thlaspi caerulescens* sont capables de croître, se développer, et se reproduire (**Dahmani-Müller et al., 2001; Wojcik et al., 2005**).

### 3.1.2. Effet du cadmium sur le statut hydrique

Le cadmium affecte l'absorption de l'eau, son transport ainsi que la transpiration (**Vassilev et al., 1997**). Ces perturbations hydriques se manifestent par une diminution de la teneur relative en eau (TRE ou RWC : Relative Water Content), du potentiel hydrique ( $\psi$ ) et du potentiel de turgescence foliaire (**Vassilev et Yordanov, 1997**). Le cadmium produit une accumulation de composés phénoliques insolubles, comme la lignine, dans les vaisseaux de xylème réduisant ainsi le transport ascendant de l'eau et des éléments nutritifs (**Chaoui et El Ferjani, 2004**).

De même, le cadmium provoque une réduction de la transpiration ainsi qu'une augmentation de la résistance stomatique accompagnée d'un accroissement de la teneur en acide abscissique (ABA) (**Sharma et Kumar, 2002 ; Fediuc et al., 2005**). Cependant, des chercheurs suggèrent que la fermeture stomatique, en présence de  $\text{Cd}^{2+}$ , est due à la ressemblance chimique entre les ions  $\text{Cd}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$  (**Fediuc et al., 2005 ; DalCorso et al., 2008**). En effet, la fermeture stomatique est due essentiellement aux variations du potentiel de turgescence dans les cellules de garde. Elle se déclenche suite à une accumulation des ions  $\text{Ca}^{2+}$  dans le cytosol des cellules de garde (**MacRobbie et Kurup, 2007**). Étant chimiquement semblables aux ions  $\text{Ca}^{2+}$ , les ions  $\text{Cd}^{2+}$  gagnent les cellules de garde par les canaux de  $\text{Ca}^{2+}$  tensio-dépendants et, une fois dans le cytosol, ils affectent l'activité de  $\text{Ca}^{2+}$  (**Perfus-Barbeoch et al., 2002**). Le transport de l'eau dans la plante a été souvent bloqué par le stress métallique (**Barcelo et poschenrieder, 1990**).

### 3.1.3. Effets du cadmium sur la nutrition minérale

Le cadmium est susceptible de perturber la nutrition minérale des plantes en interférant avec le prélèvement de certains éléments essentiels (fer, cuivre, manganèse, magnésium, calcium), soit par substitution, soit par compétition au niveau des sites d'absorption membranaire (**Van Assche and Clysters, 1990**). Le déséquilibre de la balance ionique induit par le cadmium affecte directement et/ou indirectement plusieurs processus métaboliques se traduisant à l'échelle phénologique par des signes de carence et des troubles de croissance (**Boulila Zoghliami, 2006**).

### 3.1.4. Effet du cadmium sur la photosynthèse

La photosynthèse est un processus important pour la production de biomasse et la croissance des plantes. Cependant, le cadmium affecte significativement l'appareil photosynthétique (**Clemens, 2006; Nedjimi et Daoud, 2009 ; Manousaki et Kalogerakis, 2009**). La diminution de la capacité photosynthétique par le cadmium peut être due essentiellement à une désorganisation structurale des chloroplastes (**Djebali et al., 2005**). **Baryla et al. (2001)** rapportent que la chlorose observée dans les feuilles de *Brassica napus* est due à une diminution significative de la densité des chloroplastes et à une augmentation de la taille des cellules mésophylliennes et suggèrent que  $Cd^{2+}$  affecte aussi la genèse des organites cellulaires, essentiellement les chloroplastes. Le cadmium pourrait aussi avoir une action directe ou indirecte sur la teneur en chlorophylles (**Ghnaya et al., 2005 ; Mobin et Khan, 2007 ; Singh et al., 2010**) par l'intermédiaire de perturbations métaboliques (**Vassilev et al., 1997**) ou d'une inhibition des enzymes de biosynthèse de la chlorophylle (**Padmaja et al., 1990**). En revanche, en conditions de stress cadmique, chez les halophytes, l'augmentation de la concentration exogène en NaCl se manifeste par un effet protecteur sur les processus de biosynthèse de la chlorophylle contre la toxicité du métal (**Kadukova et al., 2004 ; Wahla et Kirkham, 2008**).

### 3.1.5. Induction d'un stress oxydatif par le cadmium

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS : Reactive Oxygen Species) sont généralement produites par l'activité cellulaire normale comme la photorespiration, mais leur niveau est augmenté sous stress causant des dommages oxydatifs aux lipides membranaires, aux protéines et aux acides nucléiques (Koca et al., 2007). Plusieurs travaux montrent que le cadmium peut induire un stress oxydatif chez la plante (Liu et al., 2007 ; Djebali et al., 2008; Gill and Tuteja, 2010; Gill et al., 2011). En effet, en présence de cadmium, les plantes produisent des radicaux libres qui sont des formes réactives de l'oxygène, capables d'endommager les structures cellulaires (Razinger et al., 2008 ; Szöllösi et al., 2009 ; Ahmad et al., 2010 ; Martínez Domínguez et al., 2010). Les plus connues de ces formes réactives sont l'ion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le radical hydroxyl ( $\cdot OH$ ) et l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) (Dat et al., 2000).

Les plantes soumises à un stress oxydatif font appel à des systèmes de défense enzymatiques et non enzymatique très efficaces, tels que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), l'acrobate peroxydase (APOX), la glutathion réductase (GR), les peroxydases (POD) et le Glutathion (GSH). Ces systèmes de défense permettent d'éliminer et/ou de neutraliser les radicaux libres, de préserver au mieux l'environnement tissulaire puis de le réparer. (Noctor et Foyer, 1998 ; Ann Peer et al., 2005) (Figure 2 ).

Cependant, selon Salin (1988), contrairement à d'autres métaux lourds tels que Cu, le Cd n'agit pas directement sur la production de ROS par des réactions de type Fenton ( $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \cdot OH + OH^- + Fe^{3+}$ ). Les plantes exposées au cadmium adoptent un processus de prévention de la production de ROS comme une première ligne de défense contre le stress oxydatif. Une fois formé, les ROS vont être détoxifiés efficacement que possible dans le but de minimiser les dommages éventuels. Ainsi, les mécanismes de détoxification constituent la deuxième ligne de défense contre les

effets néfastes des ROS (Moller, 2001). Ces modifications sont différentes selon l'espèce étudiée, l'organe, l'âge de la plante et la concentration du cadmium utilisée (Metwally et al., 2003, Milone et al., 2003 ; Hsu et Kao, 2004 ; Cho et Seo, 2005 ; Martínez Domínguez et al., 2010 ; Singh et al., 2010).

Le cadmium augmente l'accumulation de peroxydes lipidiques chez les plantes *Pisum sativum* (Metwally et al., 2005), *Oryza sativa* (Ahsan et al., 2007), *Helianthus annuus* (Groppa et al., 2001), *Brassica juncea* (Mobine et Khan, 2007), *Glycine max* (Noriega et al., 2007), *Lycopersicon esculentum* (Ammar et al., 2007), *Brassica napus* (Filek et al., 2008), *Vigna mungo* (Singh et al., 2008) et *Lepidium sativum* (Gill et al., 2011). Des accumulations de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont été détectées dans les feuilles des différentes espèces végétales, après exposition des concentrations du Cd sur ces dernières, telles que *Pisum sativum* (Romero-Puertas et al., 2004), *Arabidopsis thaliana* (Cho et Seo, 2004), *Brassica juncea* (Mobine et Khan, 2007) et *Vigna mungo* (Singh et al., 2008). Balestrasse et al. (2006) ont également affirmé que le Cd stimule l'augmentation de l'accumulation *in-situ* de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et O<sub>2</sub><sup>-</sup> dans les feuilles de soja. Guo et al. (2007) ont rapporté que l'exposition à 50 mM du Cd a augmenté significativement la teneur en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans les racines de *Oryza sativa*.

### 3.2. Mécanismes de défense induits par le cadmium

Les mécanismes conduisant à la tolérance au métal lourd peuvent être divisés en deux groupes: les stratégies d'exclusion et les stratégies de tolérance. Les mécanismes d'exclusion limitent la pénétration du métal, l'excluant ainsi des tissus de la plante; ce système de défense fonctionne au niveau racinaire et met en jeu, outre les processus de chélation et de séquestration (figure 2) (Leita et al., 1996). Les plantes présentant des mécanismes de tolérance sont capables d'accumuler, de stocker et d'immobiliser le métal. La tolérance pourrait aussi impliquer le plasmalemme soit en réduisant l'absorption soit en stimulant l'efflux des métaux lourds ayant été absorbés.

### 3.2.1. Absorption

Le prélèvement des éléments minéraux par les plantes dépend des paramètres suivants : (1) concentration en éléments potentiellement biodisponibles dans le sol, (2) activité et statut ionique des éléments dans la solution de sol, (3) transport des éléments à l'interface racine/sol. La plante est capable de mobiliser ou d'immobiliser les métaux en changeant les conditions rhizosphériques par la production d'exsudats racinaires, par extrusion de protons, de phytosidérophores ou d'acides organiques (**figure 4**) (**Kinnersley 1993 ; Wenzel et al. 2003**). Ces composés chimiques présents dans la rhizosphère sont impliqués dans l'augmentation du prélèvement des métaux et leur translocation vers les feuilles, bien que les mécanismes mis en jeu ne soient pas clairement définis (**Mench et Martin 1991**).

En effet, pour le cadmium leur absorption par les racines est déterminée par la concentration en cadmium du sol et par sa disponibilité biologique. Seule une fraction du cadmium est disponible pour l'absorption. De nombreux facteurs tels que le pH du sol, le contenu en matières organiques et la concentration des autres éléments minéraux peuvent influencer fortement la fraction du cadmium disponible (**Sauvé et al., 2000**). L'absorption du cadmium semble être en compétition avec des éléments tels que K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, Ni pour les mêmes transporteurs transmembranaires (**Cseh, 2002 ; Benavides et al., 2005 ; Pal et al., 2006**).

Les métaux entrent par les racines par voie symplastique (en traversant les membranes cellulaires) et apoplastique (par les espaces intracellulaires). Une fois dans le xylème, les métaux sont transportés vers les feuilles où ils peuvent être séquestrés dans différents compartiments cellulaires (cytosol, paroi cellulaire, vacuole) ou être volatilisés par les stomates. Le transport membranaire du cadmium dans les cellules est vraisemblablement réalisé par des transporteurs d'autres ions divalents en particulier du fer et du zinc (**Cosio et al., 2004 ; Benavides et al., 2005**) mais probablement aussi par les canaux à calcium (**Clemens, 2006**). Ainsi, chez *Arabidopsis thaliana*, le transporteur du fer ferreux IRT1 (Iron Regulated Transporter), qui appartient à la famille ubiquitaire ZIP de transporteurs de métaux (Zinc Regulated Transporter/IRT Related proteins), pourrait contribuer à l'influx racinaire de différents cations dont le cadmium (**Briat et Lebrun 1999 ; Guerinot, 2000 ; Clemens, 2006**).

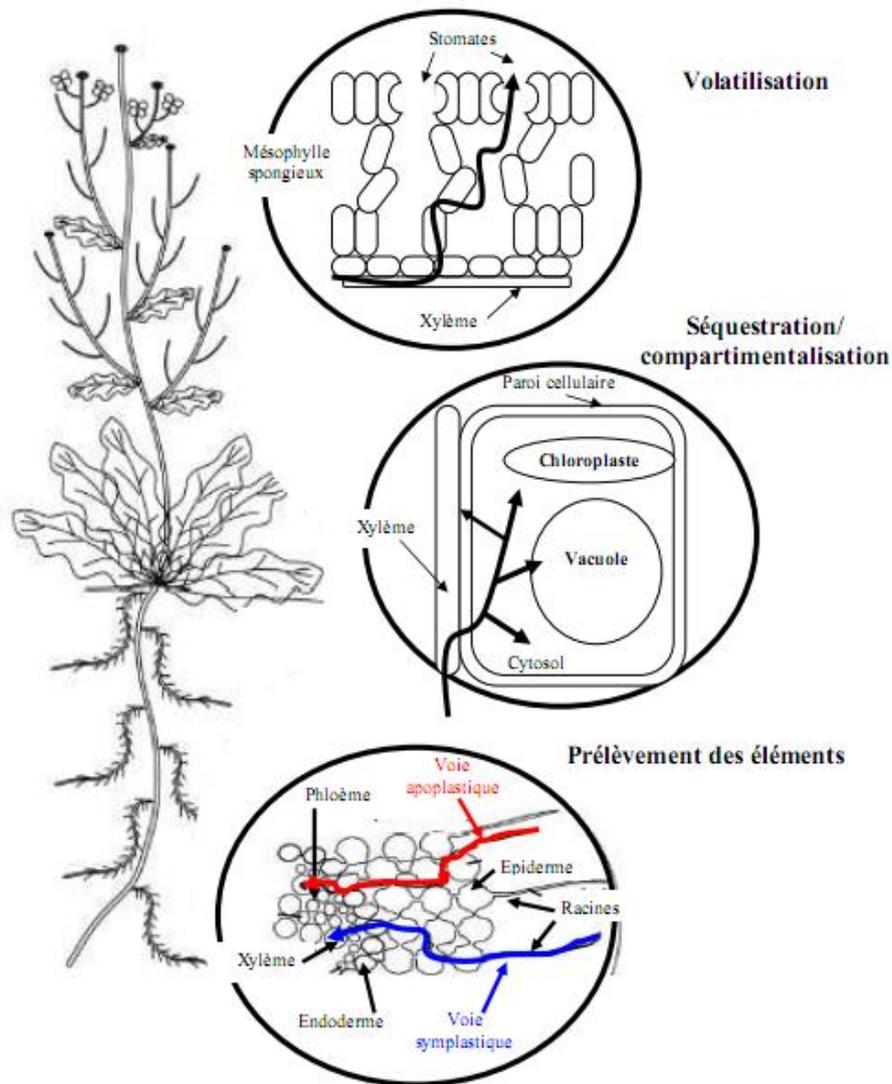


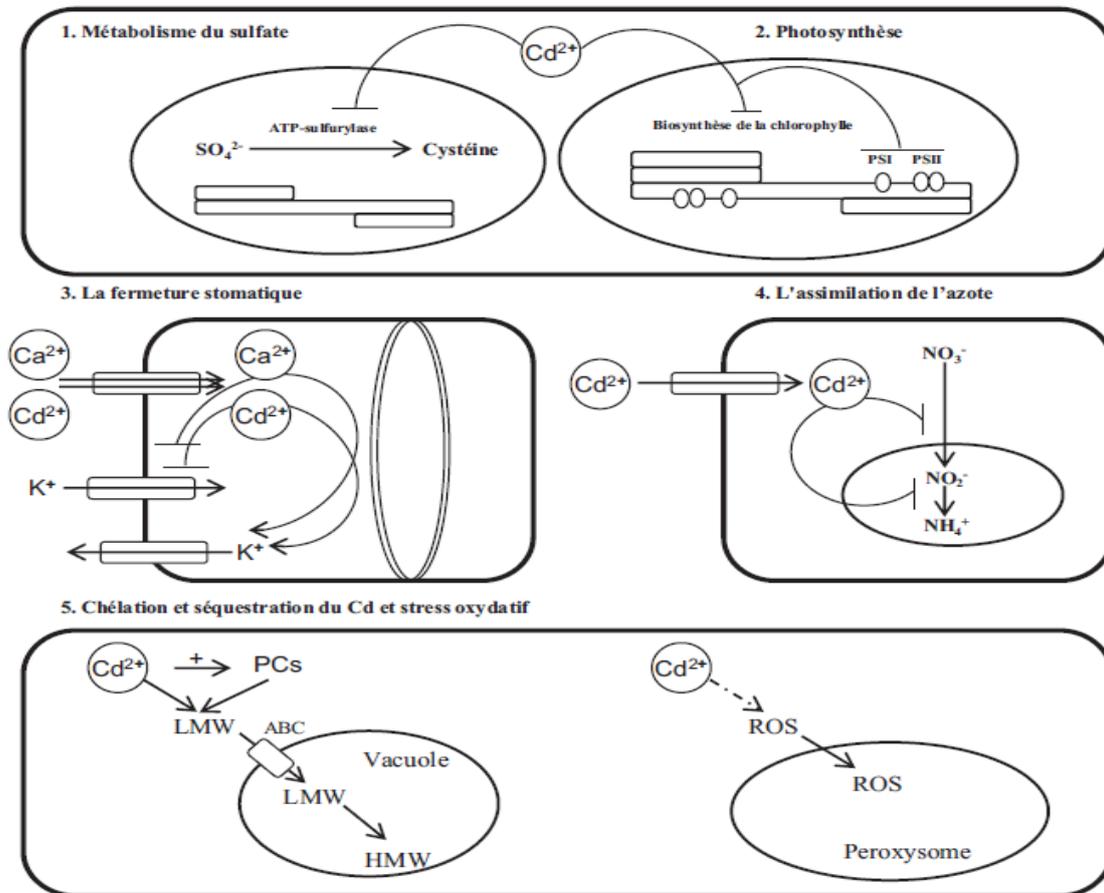
Figure 2 : Voies de prélèvements des métaux par les plantes (Peer et al., 2006).

Par ailleurs, chez l'hyperaccumulateur *Thlaspi caerulescens*, le transport du zinc, réalisé par le transporteur ZNT1, appartenant aussi à la famille ZIP, s'avère également capable de prendre en charge le cadmium (Hall, 2002 ; Clemens, 2006). Une autre famille de transporteurs de métaux permettant potentiellement l'entrée du cadmium est constituée par la famille Nramp (protéines de macrophages associées à la résistance naturelle). La surexpression du gène AtNramp3 chez *Arabidopsis thaliana* lui confère une hypersensibilité au cadmium (Thomine et al., 2000) et le transporteur Nramp3 serait localisé au niveau du tonoplaste .

### 3.2.2. La chélation et la séquestration du cadmium

Les plantes mettent en œuvre des mécanismes « spécifiques » pour diminuer la toxicité des métaux. Ces mécanismes incluent l'inactivation des métaux par chélation et par leur exclusion des compartiments cellulaires dans lesquels ils sont toxiques. Ceci suppose cependant que les métaux sont séquestrés dans des organites spécifiques comme les vacuoles ou dans certaines structures telles que les trichomes ou poils vésiculaires (salt glands) (Clemens, 2006). Les voies de séquestration du métal dans la racine jouent un rôle en déterminant la vitesse de translocation vers les parties aériennes de la plante. Après l'entrée dans le cytosol, le cadmium, qui présente une forte affinité pour les thionates, est en grande partie chélaté par le glutathion ou par des peptides dérivés du glutathion : les phytochélatines mais aussi par des acides organiques comme le citrate (Clemens, 2006). Les phytochélatines sont synthétisées en réponse à l'exposition à différents ions métalliques et le cadmium en est le plus puissant activateur (Clemens, 2006), sachant que la majeure partie du cadmium forme des complexes avec les PCs (Vatamaniuk et al., 2000). Le complexe Cd-phytochélatine, formé dans le cytosol, serait transporté dans la vacuole par un transporteur de type ABC ; le cadmium libre pouvant également être transporté dans la vacuole selon un antiport H<sup>+</sup>/Cd (Figure 3).

Le cadmium forme avec les phytochélatines des complexes de faible masse moléculaire (LMW). Le complexe PC-Cd (LMW) n'affecte pas le métabolisme au niveau du cytoplasme. Il est acheminé vers la vacuole. Une fois dans la vacuole, les complexes PC-Cd (LMWs) s'agrègent les uns aux autres par des ponts sulfures pour former des complexes de masse moléculaire élevée (HMW) (Clemens, 2006 ; DalCorso et al., 2008) (Figure 3). Ce cycle se termine par la dissociation de ces complexes, à cause du pH vacuolaire, provoquant la libération des ions Cd<sup>2+</sup> qui seront pris en charge par les acides organiques présents, tels que le malate, le citrate ou encore l'oxalate. Les PCs sont recyclées et réexportées dans le cytoplasme pour capter d'autres ions et les réacheminer dans la vacuole (Sanità di Toppi et Gabbrielli, 1999).



**Figure 3 :** Principaux effets du cadmium sur la physiologie des plantes et réponses des plantes au cadmium (DalCorso *et al.*, 2008).

Après accumulation dans la cellule, le Cd inhibe le métabolisme du sulfate (1) la photosynthèse et la biosynthèse de chlorophylle (2). Étant chimiquement semblables au  $Ca^{2+}$ , les ions  $Cd^{2+}$  gagnent les cellules de garde et activent l'ouverture des canaux potassiques. L'entrée des ions potassium provoque la perte de la turgescence des cellules de garde ce qui déclenche la fermeture stomatique (3). Le Cd inhibe l'activité des enzymes racinaires impliquées dans l'assimilation de l'azote : par exemple la nitrate réductase et la nitrite réductase (4). Une fois dans le cytosol (5), le Cd stimule la synthèse des phytochélatines (PCs). Le cadmium forme avec les phytochélatines des complexes de faible masse moléculaire (Low). Ces complexes entrent dans la vacuole par l'intermédiaire d'un transporteur tonoplastique du type ABC et s'agrègent les uns aux autres pour former des complexes de masse moléculaire élevée (High Molecular

Weight (HMW)). A droite, le Cd induit la production de radicaux libres qui sont des formes très réactives de l'oxygène (ROS) qui seront désintoxiquées dans les peroxysomes. PSI : photosystème I, PSII: photosystème II.

La compartimentation du cadmium peut aussi se réaliser au niveau foliaire. Une particularité observée chez *B. juncea* et le tabac est un stockage préférentiel du cadmium dans les trichomes des feuilles (Salt *et al.*, 1995 ; Choi *et al.*, 2001). Le rôle des phytochélatines dans la chélation des métaux et du cadmium en particulier, en relation avec la tolérance au cadmium, a fait l'objet de nombreuses études rapportées par Benavides *et al.* (2005) et Clemens (2006). A titre d'exemple, en utilisant *Brassica juncea*, Haag-Kerwer *et al* (1999) montrent que l'accumulation du cadmium s'accompagne d'une induction rapide de la biosynthèse de phytochélatines, théoriquement suffisante pour assurer une protection des processus physiologiques de la plante.

### 3.2.3. Transfert et translocation

Une fois absorbés par les racines qui jouent le rôle d'échangeurs d'ions, les métaux traversent la membrane plasmique par des transporteurs ou des sites de fixation de plus forte affinité (Hirsch *et al.*, 1998). Trois processus majeurs peuvent alors réguler le transfert des métaux des racines vers le xylème : (1) la séquestration des métaux dans les cellules racinaires, (2) le transport symplastique vers la stèle, (3) le relargage dans le xylème.

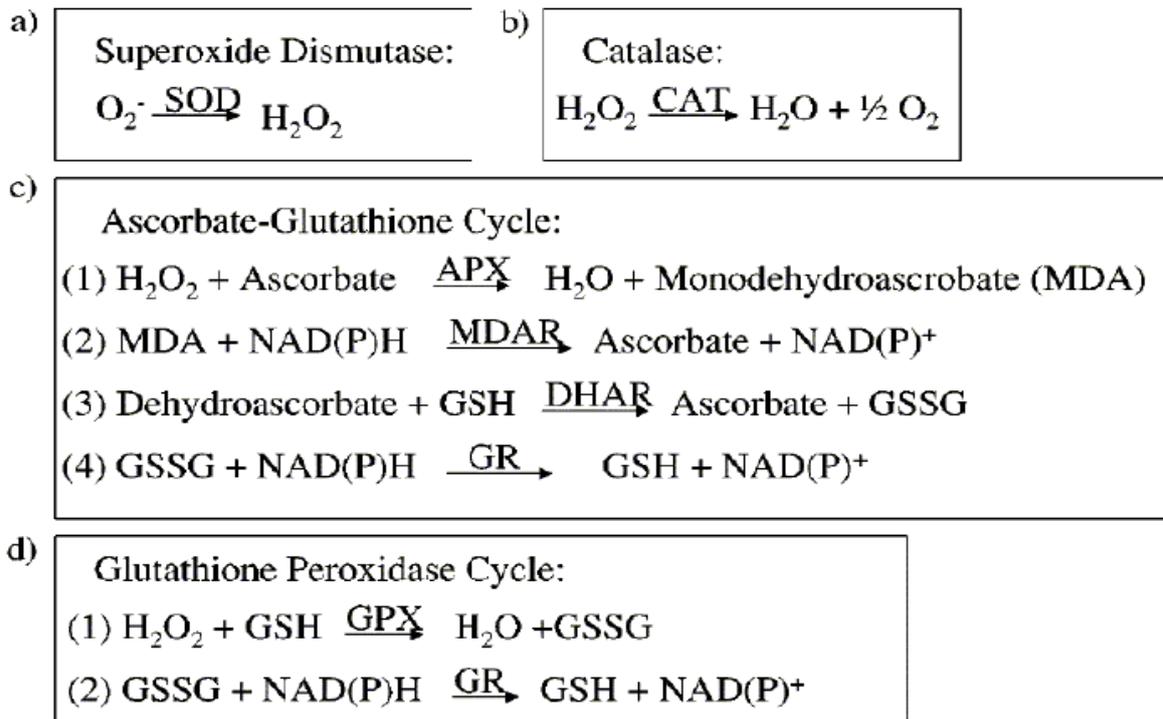
Dans la plante, les métaux sont souvent peu mobiles et forment des complexes insolubles avec les carbonates, les sulfates et les phosphates, les immobilisant dans les compartiments apoplastiques ou symplastiques (Raskin *et al.*, 1997). L'immobilisation des métaux sur les parois cellulaires des racines peut être assimilée à une stratégie d'exclusion des métaux par la plante (Baker 1981; Dahmani-Muller *et al.*, 2000). Les métaux non essentiels empruntent plutôt la voie apoplastique, perméable aux solutés, alors que les ions métalliques essentiels atteignent le xylème par la voie symplastique (Tester *et Leigh* 2001). Le transport des ions dans le xylème,

dont CdII, CuII, PbII et ZnII, est contrôlé par les protéines de transport membranaires (Clemens *et al.*, 2002; Williams *et al.*, 2000). La chélation avec certains ligands tels que l'histidine, la nicotianamine et le citrate ont tendance à faciliter le transport des métaux dans le xylème alors que la synthèse de phytochélatines et de métallothionéines favorise la séquestration dans les racines (Clemens *et al.*, 2002). Après son efflux dans le xylème, le cadmium, libre et lié aux phytochélatines, est transporté vers les parties aériennes de la plante par la sève xylémienne (Salt *et al.*, 1995b ; Gong *et al.*, 2003).

Dans les plantes normales, la teneur en Cd des feuilles est comprise entre 0,1-3 µg / g M.S., chez les plantes qui l'excluent, elle est de 0,03 µg / g M.S. et chez les plantes accumulatrices, de 20 µg /g MS. (Reeves et Baker, 2000). La plus grande partie du cadmium accumulé reste dans les racines, seules de petites quantités sont transportées vers les parties aériennes. Ainsi, chez le blé, 78 % du cadmium sont retenus dans les racines (Zhang *et al.*, 2000). En général, la teneur en cadmium des plantes diminue dans l'ordre suivant : racines > tiges > feuilles > fruits > graines.

### 3.2.4. Le Système Enzymatique antioxydant

Parmi les enzymes antioxydants, la superoxyde dismutase, présente dans les chloroplastes et les mitochondries, permet la transformation de  $O_2^{\cdot-}$  en  $H_2O_2$  ; ce dernier est directement éliminé par la catalase dans les peroxysomes mais aussi par la gâiacol peroxydase présente dans le cytosol, la vacuole et la paroi (Figure 4). De nombreux travaux confirment une augmentation des activités anti-oxydantes sous l'effet des métaux lourds (Lagriffoul *et al.*, 1998 ; Baccouch *et al.*, 2001 ; Dixit *et al.*, 2001 ; Pal *et al.*, 2002; Zacchini *et al.*, 2003). Cependant, au-delà d'une certaine concentration en cadmium, une inhibition de certaines activités enzymatiques antioxydantes peut être observée (Gallego *et al.*, 1996 ; Srivastava *et al.*, 2004).



**Figure 4 :** Principales réactions enzymatiques permettant l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Appel et Hirt, 2004) : superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), cycle ascorbate-glutathion, et cycle de la glutathion peroxydase (GPX).

### 3.3. Autres stratégies de défense

#### 3.3. 1. Accumulation des métaux dans les feuilles âgées

L'accumulation de cadmium, dans les feuilles âgées pourrait également être considérée comme une stratégie de tolérance au cadmium. En général, la teneur en cadmium dans les feuilles augmente avec l'âge des feuilles. Chez *Armeria maritima* subsp. *halleri*, dans les feuilles marron (les plus âgées), la teneur en Cu, Cd, Zn et Pb sont 3 à 8 fois supérieure à celle des jeunes feuilles (Dahmani-Muller, 1999) (Dahmani-Müller et al., 2000). L'accumulation du cadmium dans les trichomes pourrait également être considérée comme une stratégie de tolérance au cadmium (Salt et al., 1995). En fait, et selon les mêmes auteurs, des accumulations de Cd ont été également observées dans les trichomes de plusieurs espèces. Cette observation suggère un transport interne depuis des feuilles vertes, encore actives d'un point de

vue photosynthétique, vers les feuilles qui sont sur le point de tomber, préservant ainsi la photosynthèse tout en détoxiquant la plante.

### 3.3. 2. Biosynthèse d'éthylène

Le cadmium pourrait induire une biosynthèse d'éthylène dans les racines et les feuilles. L'éthylène serait alors un messenger stimulant la lignification limitant de ce fait les flux de cadmium dans les systèmes vasculaires et accélérant la réponse antioxydante par induction de l'activité ascorbate peroxydase (APX), ainsi que par la synthèse des chélateurs (**Sanità di Toppi et Gabbrielli, 1999**).

### 3.3.3. Les acides aminés

Une des stratégies mise en œuvre par les plantes pour freiner ou empêcher les effets toxiques des métaux lourds, est constituée par une accumulation des composants non enzymatiques ; comme par exemple les acides aminés et plus particulièrement la proline (**Sharma et Dietz, 2006**). Une augmentation de ce soluté compatible a été observée sous l'effet du cadmium chez le tournesol, la silène, le haricot et le soja (**Kastori et al., 1992 ; Schat et al., 1997 ; Zhang et al., 2000 ; Balestrasse et al., 2005**). Au-delà de son rôle reconnu d'osmoticum, la proline permettrait d'éliminer ou de réduire la production d'espèces toxiques de l'oxygène telles que l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) et le radical hydroxyle (OH $\cdot$ ), assurant ainsi une protection des constituants cellulaires (**Sharmila et Pardha Saradhi, 2002**).

### 3.3.4. Transporteurs membranaires

Des transporteurs membranaires de type pompe ATPasique, spécifiques du cadmium seraient présents chez *A. thaliana* et réaliseraient un efflux actif des ions métalliques à l'extérieur des cellules (**Briat et Lebrun, 1999**).

## 3.4. Prélèvement et accumulation du cadmium

Selon leurs aptitudes à tolérer, à absorber ou à accumuler le cadmium dans les tissus, les plantes peuvent être caractérisées d'indicatrices, d'exclusives ou d'accumulatrices voire d'hyperaccumulatrices. Chez les plantes indicatrices, le

prélèvement et le transport du cadmium dépendent linéairement de la concentration dans le sol, et la concentration du cadmium dans la plante reflète celle du sol. Chez les plantes exclusives, la concentration du cadmium dans la plante est nettement inférieure à celle que l'on peut observer dans le sol. À l'inverse, chez les plantes accumulatrices ou hyperaccumulatrices, la concentration du cadmium dans la plante est nettement supérieure à celle que l'on peut observer dans le sol (**Bourrelier et Berthelin, 1998**).

### 3.4.1. Prélèvement du cadmium

Peu d'auteurs ont étudié les parts respectives du prélèvement racinaire et du prélèvement foliaire du cadmium dans le contenu en cadmium accumulé par les plantes. On estime que, pour la majorité des métaux, le prélèvement se fait quand ces éléments sont sous forme de cations libres ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) (**Hart et al., 1998a ; Hart et al., 1998b**).

Dans des cas particuliers, d'autres formes pourraient être absorbés, par exemple des complexes inorganiques de cadmium ( $\text{CdCl}^+$  et  $\text{CdCl}_2$ ) observés dans les sols salés ou irrigués avec des eaux chlorées (**Weggler-Beaton et al., 2000; Weggler et al., 2004**). Comme le  $\text{Cd}^{2+}$  est un ion métallique non essentiel, on considère qu'il n'existe pas de mécanisme spécifique d'absorption de cet élément. Le cadmium étant un métal facilement absorbé par les racines des plantes (**Wagner, 1993**). Il a cependant été montré que le cadmium peut être absorbé par simple diffusion et que les différentes voies d'absorption du cadmium peuvent varier selon l'espèce végétale considérée. Chez le riz, le maïs et le soja, l'absorption est réalisée principalement par des transporteurs membranaires (**Cataldo et al., 1988**), alors que chez l'orge, l'absorption du cadmium se fait principalement par une simple diffusion (**Cutler et Rains, 1974**). Chez d'autres espèces, les deux voies peuvent coexister comme chez le blé dur où l'absorption du cadmium est effectuée par simple diffusion et par des transporteurs (**Hart et al., 1998b**).

### 3.4.2. Accumulation du cadmium

Il a été clairement démontré que la capacité d'accumulation de cadmium était dépendante de la famille végétale (**Kuboi et al., 1986**) et de l'espèce (**Coullery, 1997**). Les plantes cultivées les moins accumulatrices de cadmium sont les Légumineuses. Les *Poacées*, les *Liliacées*, les *Cucurbitacées* et *Apiacées* sont moyennement accumulatrices. Les *Chénopodiacées* (épinard, betterave), les *Brassicacées* (chou, navet, radis) et les *Astéracées* (laitue) sont les plus accumulatrices (**Kuboi et al., 1986**). L'accumulation de cadmium diffère considérablement selon les organes et les tissus d'une même plante. À l'échelle de la plante entière, il y a généralement moins de Cd dans les feuilles que dans les racines, et encore moins dans les fruits et dans les graines (**Wagner, 1993**). Chez *Azolla filiculoides*, les niveaux d'accumulation du Cd<sup>2+</sup> sont au moins deux fois plus élevés dans les racines que dans les parties aériennes (**Sela et al., 1989**). Cependant, chez certaines espèces, le cadmium peut s'accumuler fortement en dehors des racines. C'est par exemple le cas du tabac qui accumule dans ses feuilles plus de 80% du cadmium prélevé par les racines (**Elmayan et Tepfer, 1994**).

À l'échelle cellulaire, la localisation du cadmium est encore mal connue. Deux compartiments cellulaires semblent jouer un rôle important dans le stockage et la localisation du cadmium : les parois cellulaires et les vacuoles. Selon les plantes et les techniques utilisées, les auteurs ont mis en évidence que le cadmium est : soit associé à des granules dans les vacuoles, le cytoplasme, les plastes ou le noyau (**Vazquez et al., 1992**), soit lié aux parois cellulaires (**Lozano-Rodriguez et al., 1997; Ramos et al., 2002**), soit présent dans différents types de structures simultanément (**Dahmani-Müller, 2000**). **Ramos et al. (2002)** ont quantifié cette répartition dans les feuilles de laitue : 63-64 % du cadmium est lié aux parois cellulaires alors que 13 à 25 % est localisé dans le protoplasme et 6 à 16 % dans les chloroplastes. En fait, ces différences semblent liées au niveau (degré) de contamination considéré.

## 4. Utilisation des halophytes en Phytoremédiation

### 4.1. La Phytoremédiation

#### 4.1.1. Définition

En matière de remédiation des sols, les méthodes physico-chimiques sont majoritairement utilisées, malgré leur coût élevé et leur impact négatif sur la structure et la vie biologique du sol. La phytoremédiation, technique peu coûteuse et écologique a été proposée en 1983 par Chaney, mais le principe est connu depuis 300 ans (**Henry, 2000**), et présente l'avantage de pouvoir être mise en œuvre *in situ*. L'EPA (Agence pour la Protection de l'Environnement) définit la phytoremédiation comme étant « l'utilisation directe de plantes pour la réduction *in situ* des risques liés aux sols, boues et sédiments contaminés et aux eaux souterraines, par l'extraction, la dégradation ou le confinement des polluants» (**EPA, 2000**). La phytoremédiation comprend plusieurs procédés : la phytovolatilisation, la rhizofiltration, la phytostabilisation, la phytodégradation et la phytoextraction (**Pilon-Smits, 2005 ; Kirkham, 2006**) (tableau 2).

#### 4.1.2. Les différents procédés de la phytoremédiation

##### 4.1.2.1. La Phytovolatilisation

Dans ce procédé, les contaminants solubles sont absorbés par les racines, transportés vers les feuilles et volatilisés dans l'atmosphère par les stomates sous des formes moins toxiques ou après une modification métabolique. Ainsi, le sélénium peut être relâché dans l'atmosphère sous forme de diméthyl sélénite ou de diméthyl disélénite (**Ann Peer et al., 2005**).

##### 4.1.2.2. La Rhizofiltration

Cette méthode s'applique spécifiquement à la restauration des eaux de surface et souterraines polluées. L'adsorption, l'absorption ou la précipitation des métaux toxiques par les racines jouent un rôle clef dans cette technique et en conséquence, d'importantes surfaces de racines sont requises (**Ghosh et Singh, 2005**).

#### 4.1.2.3. La Phytostabilisation

La phytostabilisation est l'implantation d'un couvert végétal sur une surface contaminée qui protège le sol contre l'érosion éolienne et hydrique; les polluants sont ainsi immobilisés dans les écosystèmes (**Alkorta et al., 2004 ; Ghosh et Singh, 2005**).

#### 4.1.2.4. La Phytodégradation

La phytodégradation (ou phytotransformation) repose sur l'effet rhizosphère qui stimule la dégradation des composés organique des sols. Cette décomposition est réalisée grâce à des enzymes variées, internes ou sécrétées par la plante (**Chaudhry et al., 1998 ; Ann Peer et al., 2005**).

#### 4.1.2.5. La phytoextraction

La phytoextraction représente la seule voie biologique d'extraction *in situ* des métaux. Cette technique est basée sur le prélèvement des métaux par leurs racines et de les transporter ensuite vers les parties aériennes (**Xiaomei et al., 2005; Lestan, 2006**), où ils sont généralement séquestrés sous la forme de complexe dans les vacuoles (**Montarges-Pelletier et al., 2009**). Cette voie de décontamination des sols a été testée au laboratoire puis au terrain, avec la découverte d'espèces nouvelles pour l'extraction de métaux toxiques comme le cadmium (**Schwartz et al., 2003**).

Dans son principe, la phytoextraction consiste à cultiver des plantes accumulatrices, avec une forte production de biomasse, ou des plantes hyperaccumulatrices afin de réduire la concentration en métaux assimilable dans le sol.

#### 4.1.3. Plantes accumulatrices et hyperaccumulatrices

Les plantes hyperaccumulatrices sont des espèces capables d'accumuler des teneurs élevées en métaux lourds dans leurs organes aériens, à des concentrations 10 à 100 fois plus élevées que celles tolérées par la plupart des plantes (**Baker et Brooks 1989; Brooks, 1998 ; Salt et Krämer, 2000 ; Gratao et al., 2005 ; Meharg, 2005**) :

- ✓ 10 µg de Hg/g de MS (matière sèche) ;
- ✓ 100 µg de Cd/g de MS ;
- ✓ 1000 µg de As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Se/g de MS ;
- ✓ 10 000 µg de Mn, Zn/g de MS.

L'hyperaccumulation a été confirmée par la mesure de teneurs qui, rapportées à la biomasse sèche aérienne, étaient supérieures à 0,2 % pour le Cd, 1,2 % pour le Co, 3,8% pour le Ni et 4 % pour le Zn (**Krämer et Chardonnens, 2001**). Cependant, l'hyperaccumulation implique trois processus majeurs (**Salt et Krämer, 2000**) :

- ✓ Absorption rapide des métaux par les racines ;
- ✓ Taux élevé de translocation des racines vers les parties aériennes ;
- ✓ Capacité élevée de stockage par compartimentation dans la vacuole.

Avec plus de 397 espèces végétales répertoriées, les plantes hyperaccumulatrices appartiennent à 45 familles différentes (**Salt et al., 1998 ; Reeves et Baker, 2000**) et environ 75% de ces espèces accumulent préférentiellement le Ni se développant sur des sols à serpentine (**Brooks et al., 1974, 1998 ; Brooks et Wither, 1977 ; Jaffré et al., 1979 ; Gratao et al., 2005**) La plupart des hyperaccumulateurs appartiennent à la famille des Brassicaceae, famille qui ne possède pas d'associations mycorhiziennes (**McGrath et al. 2001**). *Thlaspi caerulescens* est considéré comme une espèce modèle. Métallophyte endémique, hyperaccumulatrice principalement du Cd, Zn et Ni, elle constitue l'une des espèces les plus étudiées car elle possède les trois caractéristiques énoncées ci-dessus (**Baker et al., 1994 ; Chaudhry et al., 1998 ; Lasat et al., 1998 ; Zhao et al., 2002 ; Ueno et al., 2004**).

Selon **Baker (1981)**, il existe trois catégories de plantes pouvant pousser sur des sols métallifères (**figure 5**) tels que les sols de serpentine (contenant Co, Cr, Mg, Mn et Ni), les sols sélénifères (sols riches en Se), uranifères, ou calaminaires (sols riches en Cd et Zn) (**Raskin et al. 1994**) :

Tableau 2: Caractéristiques de différents procédés utilisés en phytoremédiation

Procédés de la phytoremédiation	Rhizofiltration	Phytostabilisation	Phytoextraction	Phytovolatilisation	Phytodégradation
Mécanismes	Accumulation, adsorption, précipitation	Complexation, adsorption, précipitation	Accumulation et Hyperaccumulation	Volatilisation	Dégradation rhizosphérique
Type de polluant	Inorganique	Inorganique	Inorganique	Organiques / inorganiques (As, Hg, Se)	Organiques (solvants chlorés, herbicides)
Substrats traités	Milieux aqueux	Sols, sédiments, boues	Sols, sédiments, boues	Sols, sédiments, boues	Eaux, sols, sédiments, boues
Plantes utilisées	<i>H. annuus</i> , <i>B. juncea</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>Zea mays</i>	Plantes exclusives ( <i>Agrostis tenuis</i> )	Hyperaccumulatrices ou accumulatrices à forte biomasse	Plantes modifiées génétiquement	Tout type de plante hébergeant des rhizobactéries
Avantages	Utilisation <i>in situ</i> et <i>ex situ</i>	Limite le risque de lixiviation et d'érosion Solution rapide	Utilisation <i>in situ</i> Adaptée aux pollutions diffuse	Dilution de la pollution dans l'air Pas de traitement des déchets végétaux	Pas de traitement des déchets végétaux
Inconvénients	Dépend du système racinaire	Dépend du système racinaire Nécessite une surveillance N'élimine pas le polluant du sol	Dépend du système racinaire Retraitement des déchets produits	Le risque d'exposition atmosphérique n'a pas été quantifié Utilisation d'OGM	Limité à des polluants facilement dégradables Dépend des rhizobactéries associées
Références	(Dushenkov et al., 1995)	(Cunningham et Berti, 2000)	(Garbisu et Alkorta, 2001 ; McGrath et Zhao, 2003)	(Chaney et al., 1997)	(Black, 1995)

- ✓ les exclusives qui maintiennent une faible concentration en métaux dans leurs feuilles quelle que soit la teneur du sol et qui sont principalement utilisées en phytostabilisation ;
- ✓ les accumulatrices et hyperaccumultrices qui accumulent les métaux dans leurs parties aériennes indépendamment de la concentration du sol ;
- ✓ les indicatrices dont le prélèvement en métaux reflète la concentration du sol jusqu'à ce que la teneur dans le sol leur soit toxique.

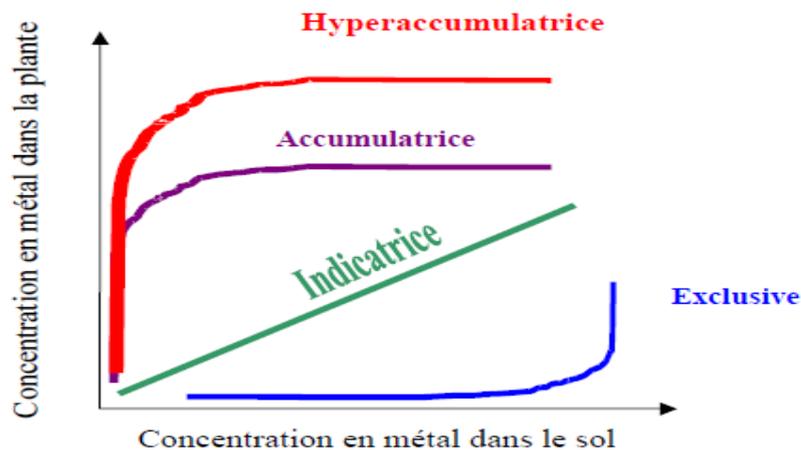


Figure 5: Catégories de plantes poussant sur des sols métallifères (Baker, 1981)

## 4.2. Cas des halophytes

Le terme halophyte (du grec « *halo* » : sel et « *phyt(o)* » : plante) définit un organisme végétal qui vit, croît et se reproduit naturellement dans un milieu salin. Par opposition, un glycophyte (du grec « *glyco* » : sucré) ne peut croître en milieu salin. L'halophilie est l'aptitude d'une espèce végétale à réaliser son cycle de développement en milieu fortement salin. Les halophytes sont des plantes naturellement tolérantes aux sels solubles et poussent aussi bien dans un environnement salin qu'en conditions normales (Malcolm *et al.*, 2003).

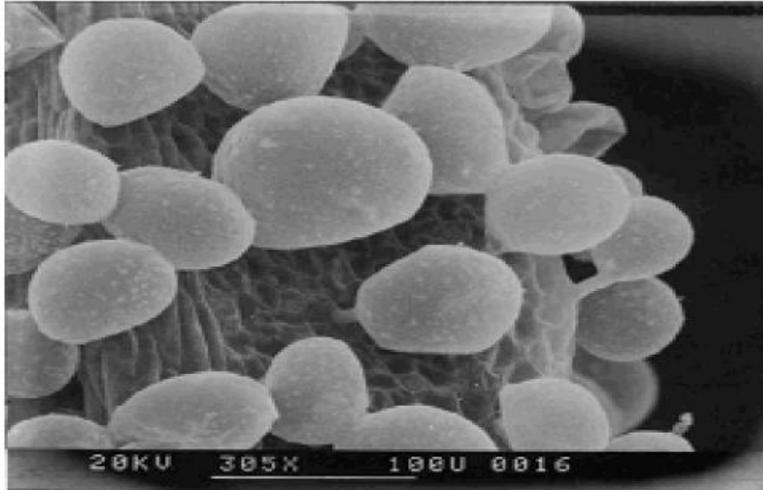
Les halophytes ont la capacité de réexpédier l'excès de sel présent dans leurs feuilles vers les racines par l'intermédiaire de la sève descendante (*excluder*). Par ce mécanisme d'exclusion, couplé à des systèmes de transport sélectif permettant d'absorber les ions nutritifs utiles et de ré-excréter les ions  $\text{Na}^+$ , la plante empêche les sels de remonter dans la sève jusqu'aux feuilles. Un second mécanisme de tolérance aux sels est présent dans les feuilles, il s'agit de l'inclusion (*Includer*).

Les halophytes utilisent les sels pour ajuster la pression osmotique de leurs cellules. Elles laissent donc monter les sels dans leurs parties aériennes pour les stocker dans les vacuoles et les isoler des constituants cellulaires vitaux (**Parida et Das, 2005**).

A l'échelle de la plante entière, les ions chlorure et sodium, qui sont souvent en excès dans les solutions des sols salés, entrent par les racines et sont véhiculés par la sève xylémique jusqu'aux tiges et aux feuilles. Par la suite, ils sont soit stockés (dans le cas des plantes de type *includer*), soit, au contraire, ils sont revéhiculés par la sève phloémique jusqu'aux racines (dans le cas des plantes de type *excluder*). Les ions chlorure et sodium pénètrent dans les cellules de la racine, puis circulent à travers le cortex racinaire jusqu'à la stèle (voie symplasmique), où ils sont sécrétés dans le xylème comme les autres ions minéraux (**Chen et al. 2002**). Chez les espèces du genre *Atriplex*, il y a une translocation préférentielle des ions  $\text{Na}^+$  vers les parties aériennes (**Bajji et al., 1998**). Le transport du sel peut se faire par la voie symplastique ou par la voie apoplastique. Le transport symplastique se ferait par le biais de vésicules de pinocytose et d'exocytose contenant le sel dans le cytoplasme.

Chez de nombreuses halophytes (*Chenopodiaceae*), la résistance au stress salin est associée à la présence d'organes spécialisés tels que les poils vésiculaires (trichomes) et les glandes excrétrices à la surface des feuilles qui leur donnent un aspect blanchâtre plus ou moins luisant (**Simon, 1997 ; Malcolm et al., 2003**). Ces structures anatomiques sont spécialisées dans l'élimination du  $\text{Na}^+$  qui arrive au niveau

des feuilles à travers le xylème puis au niveau du mésophylle. Le  $\text{Na}^+$  est emmagasiné dans ces trichomes avant qu'il ne soit excrété par la dégénérescence de ces derniers, empêchant ainsi l'accumulation toxique de ce cation dans les tissus foliaires (Barhoumi et al., 2007) (figure 6).



**Figure 6:** Aspect d'une feuille d'*Atriplex lentiformis* traitée par 5 g/l NaCl, portant des trichomes gonflés de sels (Malcolm et al., 2003).

Les poils vésiculaires sont constitués d'un pédicelle unicellulaire ou pluricellulaire portant une tête distendue. Les cellules de ces poils possèdent en plus du réticulum endoplasmique de l'appareil de Golgi et de nombreux chloroplastes, de petites vacuoles (vésicules) qui joueraient un rôle dans le transport des sels (ces vésicules semblent être plus développées dans le cas des plantes cultivées sur un milieu riche en sels solubles). Les plasmodesmes, qui favorisent le transport des ions entre les cellules, sont nettement visibles à l'intérieur de la cellule. Grâce à l'utilisation des sels de potassium marqué, il a été montré dans le cas d'*Atriplex spongia* et *Atriplex nummularia* que les poils vésiculaires sont plus riches en sels que le limbe des feuilles (Franclet et Le Houérou, 1971). Des cristaux de sels se forment dans ces cellules vésiculaires, faisant éclater la cellule, permettant le rejet du sel à la surface de la feuille. La présence de ces poils pourrait également aider la plante à diminuer son évapotranspiration et assurer une protection contre une illumination trop intense (Malcolm et al., 2003).

En général, les systèmes cellulaires responsables du transport d'ions chez les végétaux sont encore peu caractérisés aux niveaux génétiques ou moléculaires. C'est pourquoi les mécanismes qui conditionnent la circulation et la répartition du NaCl à l'échelle de la plante entière ou à l'échelle cellulaire sont encore peu élucidés (Munns, 2005).

### 4.3. Mécanismes de tolérance au stress abiotique chez les halophytes

Au cours de leur évolution, les plantes halophytes des régions arides se sont adaptés à des conditions xériques, tels la sécheresse des sols, la salinisation intense et les basses températures hivernales (Shevyakova et al., 2003). La capacité des halophytes à s'adapter à des environnements caractérisés par un excès d'ions toxiques (principalement le sodium et le chlorure) repose principalement sur leurs capacité à localiser des ions toxiques dans des organes métaboliquement inactifs et des compartiments cellulaires, pour synthétiser des osmolytes compatibles, et induire des systèmes antioxydants (Glenn et al., 1999 ; Shevyakova et al., 2003). Par conséquent, on peut supposer que les halophytes sont des espèces végétales tolérantes aux métaux lourds, possèdent en général deux mécanismes spécifiques de tolérance aux stress abiotiques (Shevyakova et al., 2003). La tolérance des halophytes au stress salin est liée à leur capacité à synthétiser des osmoprotecteurs afin de maintenir un gradient de potentiel favorable à l'absorption de l'eau et de protection des structures cellulaires (Lefèvre et al., 2009).

Une attention particulière est accordée à la proline, dont un grand nombre de données suggère que ce dernier est accumulé dans les cellules en réponse de Cd, Cu, et d'autres métaux lourds (Schat et al., 1997; Thomas et al., 1998; Shevyakova et al., 2003; Lefèvre et al., 2009; Nadjimi et Daoud, 2009). En outre, dans une étude récente, Lefèvre et al. (2009) ont démontré pour la première fois que la présence de cadmium peut déclencher une production plus abondante (sous stress) de la glycine-bétaïne (glycinebetaine oversynthesis) qui est le plus efficace osmoprotecteur synthétisé par les *Chenopodiaceae*. La capacité des halophytes à synthétiser ces

osmoprotecteurs peut être impliquée dans leur tolérance aux métaux lourds (**Lefèvre et al., 2009**).

Cependant, la résistance à la sécheresse contribue indirectement à la tolérance aux métaux lourds, car le stress métallique est responsable du stress hydrique secondaire chez les plantes, de la même manière que le stress salin (**Poschenrieder et al., 1989**). La résistance des plantes halophytes au stress salin est généralement en corrélation positive avec le système antioxydant (**Zhu et al., 2004**) et, par conséquent, les halophytes sont plus capables à résister au stress métallique par rapport à d'autres espèces (**Briat et Lebrum, 1999 ; Shah et al., 2001; Verma et Dubey, 2003**).

En outre, les halophytes ont été proposés pour remédier naturellement aux contraintes environnementales (sont mieux adaptés), y compris les métaux lourds par rapport aux plantes cultivées sensibles au sel, comme le tournesol (*Helianthus annuus*), le maïs (*Zea mays* L.), pois (*Pisum sativum* L.) et la moutarde (*Brassica juncea* L.) communément choisis à des fins de phytoextraction (**Jordan et al., 2002; Ghnaya et al., 2005, 2007**). Comme il a été signalé au paragraphe précédent, Au niveau des feuilles, les halophytes présentent des organes spécialisés tels que les poils vésiculaires (trichomes) et les glandes excrétrices. Ces structures anatomiques sont spécialisées dans l'élimination de l'excès d'ions toxiques nuisibles à la photosynthèse et ajuster la concentration d'ions du tissu végétal (**Glenn et al., 1999 ; Orcutt et Nilsen, 2000; Lefèvre et al., 2009**).

Des études ont révélé que dans certains cas, ces tissus glandulaires des halophytes ne sont pas toujours spécifiques pour  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  ; mais elles peuvent accumuler d'autres éléments toxiques tels que le cadmium, le zinc, le plomb et le cuivre (**Manousaki et Kalogerakis, 2011**). Cependant, l'excrétion des métaux à partir des tissus de la feuille semble être une méthode efficace pour faire face à l'excès des métaux chez les halophytes. Par exemple, des travaux de plusieurs auteurs sur une halophyte facultative *Tamarix aphylla* L. ont montré que les trichomes (glandes excrétrices) ne sont pas sélectifs envers le sodium et le chlorure, mais sécrètent,

également, des ions Cd et Li, et les types de sels sécrétés sont directement liés à la composition de l'environnement des racines (Thomson et al., 1969 ; Storey et Thomson, 1994 ; Hagemeyer et Waisel, 1988).

En plus des espèces halophytes, la présence des métaux lourds tels que le Cd, Zn, Mn et le Pb a été détectée dans les trichomes des espèces non-halophytes comme le tabac *Nicotiana tabacum* L. (Choi et al., 2001; Sarret et al., 2006), *Brassica juncea* (Sel et al., 1995), le tourne sol *Helianthus annuus* L. (Blamey et al., 1986), et *Arabidopsis halleri* (Kupper et al., 2000).

#### 4.3.1. La phytoremédiation vis-à-vis des métaux lourds

Les halophytes sont potentiellement résistant non seulement aux sels, mais aussi aux métaux lourds et d'autres contraintes telles que la chaleur, la sécheresse, et aussi beaucoup de ces espèces peuvent croître sur des terres de qualité médiocre qui permet leur utilisation dans le domaine de la phytoremédiation des sols caractérisés par une mauvaise structure et une faible fertilité, avec des coûts d'exploitation moins onéreuse (Manousaki et Kalogerakis, 2011). En effet, certaines espèces d'*Atriplex* accumulent le molybdène (Mo) et le sélénium (Se) en grandes quantités, dans ce cas la plante pourrait être capable d'en assurer la volatilisation des terres contaminées (Watson et al., 1994). Cependant, comme il a été mentionné précédemment, certaines plantes tolérantes au sel sont en mesure d'accumuler des métaux, offrant des opportunités à la recherche dans le domaine de phytoextraction. En effet, des études récentes ont porté sur la phytoextraction ou la phytostabilisation chez des plantes halophytes telles que *Atriplex halimus* L. (Lutts et al., 2004 ; Lefèvre et al., 2009 ; Manousaki et Kalogerakis, 2009 ; Nedjimi et Daoud, 2009), *Mesembryanthemum crystallinum* (Shevyakova et al., 2003 ; Ghnaya et al., 2005), *Sesuvium portulacastrum* (Ghnaya et al., 2007) et *Tamarix smyrnensis* Bunge (Kadukova et al., 2008 ; Manousaki et al., 2008 ; Manousaki et al., 2009) confirment le fait que les halophytes devraient recevoir de plus en plus l'attention des chercheurs dans le domaine de la phytoremédiation dans le proche avenir.

D'après plusieurs auteurs, les plantes halophytes peuvent être considérées comme des candidats prometteurs pour l'immobilisation ou l'élimination des métaux lourds non seulement des sols ordinaires, mais aussi des sols salins (Manousaki et al., 2009 ; Manousaki et Kalogerakis, 2009 ; Nedjimi et Daoud, 2009).

Des résultats récents indiquent que certaines espèces tolérantes à la salinité ont la capacité à excréter des métaux toxiques par des glandes excrétrices (spécialisées) à la surface des feuilles, qui leurs donnent un aspect blanchâtre plus ou moins luisant (figure 7), comme une méthode de désintoxication des métaux. Le terme «phyto-excrétion" a été introduit récemment dans la littérature comme un nouveau processus de phytoremédiation utilisé pour les sites contaminés par des métaux (Kadukova et al., 2008 ; Manousaki et al., 2008).



**Figure 7** : Des cristaux de sels du cadmium et du plomb sécrétés par les glandes excrétrices sur les feuilles de *Tamarix smyrnensis* (Kadukova et al., 2008).

#### 4.3.2. La phytoremédiation vis-à-vis des sols salins

La salinité du sol est l'une des principales contraintes environnementales qui limitent la production végétale dans les régions arides, elle est souvent associée à la sécheresse et elle entraîne une réduction des surfaces cultivables (Marcum, 2006).

La **FAO (2005)** estime que 7 % des terres agricoles dans le monde (920 millions d'hectares) sont affectées par les sels solubles. Par ailleurs, 25 % environ des terres irriguées sont confrontées au problème de la salinité (**Keren, 2000**). Tenant compte du fait que le rendement est contrôlé par l'interaction entre le potentiel génétique d'une plante et son environnement physique, deux solutions seraient possibles pour valoriser les sols salés. D'une part, il est possible d'agir sur le sol lui-même, en éliminant l'excès de sels solubles qu'il contient (**Kotzer, 2005**). Cette opération nécessite une disponibilité en eau de qualité acceptable, elle exige des investissements importants pour la mise en place d'un réseau de drainage pour évacuer les sels solubles du profil. D'autre part, il est possible de valoriser les sols salés par la culture de plantes résistantes aux conditions salines et qui présentent un intérêt agricole (**Masters et al., 2007**).

Cependant, les halophytes ont la capacité d'accumuler des concentrations très élevées de sels et  $\text{Na}^+$  dans leurs partie aérienne. De ce fait, les halophytes sont des candidates idéales pour la phytoremédiation des sols salins (**Manousaki et Kalogerakis, 2011**), et d'après **Khan et Duke (2001)**, les *Atriplex* peuvent être utilisés pour désaliniser les sols. En effet, il est donc possible selon **Barrett-Lennard (2002)** d'extraire d'un hectare d'*Atriplex* 1000 kg de NaCl des horizons superficiels en une année de culture. De même, **Ghnaya et al. (2005)** ont montré que pour un rendement de biomasse de 20 à 30 tonnes par hectare et par an, la teneur de NaCl atteint jusqu'à 40 % de la matière sèche pour l'*Atriplex nummularia*. Donc, il est possible d'extraire d'un hectare d'*Atriplex* 1100 kg de sel NaCl des couches superficielles du sol en une année de culture (**Francllet et Le Houerou, 1971**). Des résultats similaires ont conduit les chercheurs à penser que les halophytes pourraient être cultivées sur des sols salins, pour permettre la récupération des zones salés (**Khan et al., 2000; Owens, 2001; Keiffer et Ungar, 2002; Gerhardt et al., 2006 ; Ravindran et al., 2007**).

## 5. Les plantes du genre *Atriplex*

### 5.1. Origine et distribution

Le genre *Atriplex* appartient à la famille des *Chenopodiaceae*, il comprend près de 420 espèces réparties dans les diverses régions arides du monde, les zones tempérées, méditerranéennes et subtropicales, entre 20° et 50° de latitude Nord et Sud (Le Houérou, 1992b, 1993). En Algérie, l'*Atriplex* est spontané dans les étages bioclimatiques semi-arides et arides. Les plus grandes superficies correspondent aux zones dites steppiques (Batna, Biskra, Bousaâda, Djelfa, saïda, Tebessa et Tiaret) (Pouget, 1980). Les zones arides et semi-arides sont les loges écologiques préférentielles de la plupart des espèces du genre *Atriplex*. Toutes ces espèces présentent des adaptations particulières à ce type d'habitat. En effet, l'introduction d'arbustes fourragers résistants à l'aridité est l'un des moyens utilisés pour la valorisation des sols dégradés. En raison de leur intérêt écologique et pastoral, les espèces du genre *Atriplex* ont particulièrement retenu l'attention des organismes étatiques (Kinet et al., 1998). Les *Atriplex* sont les arbustes les mieux adaptés aux régions arides et aux sols pauvres. La couverture d'*Atriplex* accroît considérablement la perméabilité des sols et l'augmentation de drainage dans les horizons superficiels. Elle permet la reconstitution d'un tapis végétal herbacé (Herrero, 1992).

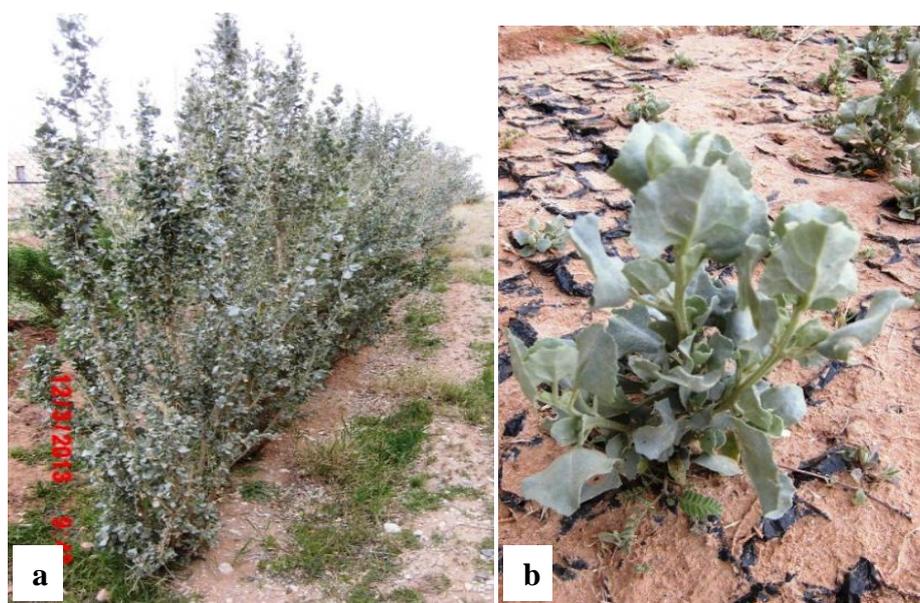
### 5.2. L'Espèce *Atriplex nummularia*

*Atriplex nummularia* L. appelée communément "Old Man Saltbush" (Malan, 2000), est une espèce originaire d'Australie (Malan et Rethman, 1997 ; Quershi et Barrett-Lennard, 1998). Elle est classée en première position pour la superficie occupée (Le Houérou, 2000 ; Martínez et al., 2003). *Atriplex nummularia* a été introduit en Afrique du Nord vers la fin du 19<sup>ème</sup> siècle. Cette espèce a été souvent utilisée particulièrement à des fins ornementales et parfois pastorales. *A. nummularia* est un arbuste dioïque, peut atteindre une hauteur de 1 à 3 m et une largeur de 2,4 m (Abou El Nasr et al., 1996 ; Aganga et al., 2003) (Figure 8). Les individus femelles sont plus feuillus que les mâles et perdent leurs feuilles plus tardivement. Les feuilles sont alternées de couleur gris verdâtre. Le feuillage est persistant mais la durée de vie

des feuilles paraît ne pas excéder un an. Les inflorescences femelles sont rassemblées en épis feuillés (**Figure 9**).

**Palmer et Ainslie (2002)**, signalent en plus de la tolérance à la sécheresse et à la salinité déjà évoquée, la résistance au froid (au-dessous de  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Il est généralement admis cependant que cette espèce est moins résistante au froid qu'*Atriplex canescens* et qu'elle ne convient pas très bien en Afrique du Nord aux altitudes supérieures à 1000 mètre.

L'*Atriplex nummularia* peut également être utilisé comme une ressource alimentaire intéressante pour l'alimentation et la sauvegarde des animaux élevés dans des conditions difficiles. L'avantage de cet arbuste est qu'il est à usage multiple, disponible sur pieds tout au long de l'année, génère une biomasse consommable relativement importante et joue un rôle important au niveau de la lutte contre la désertification. Sur le plan nutritionnel, il renferme des niveaux élevés d'azote et il est pauvre en substances anti-nutritionnelles (tanins).



**Figure 8 :** Plantule régénéré (a) et plante adulte (b)  
d'*Atriplex nummularia* (*Cliché Badache, 2013*)



**Figure 9** : Rameau feuillu avec inflorescence d'*Atriplex nummularia* (Cliché Badache, 2013)

*Atriplex nummularia* L. est un halophyte présentant une photosynthèse en C4. Néanmoins, les plantes en C4 possèdent des caractéristiques anatomiques leur permettant d'augmenter le taux de CO<sub>2</sub> dans les cellules photosynthétiques tout en diminuant la transpiration (Wang, 2004). Vues en coupe, les feuilles des plantes en C4 contiennent deux types de cellules particulières, les cellules de la gaine fasciculaire autour des faisceaux et les cellules du mésophylle autour des cellules de la gaine fasciculaire. La physiologie des plantes en C4 leur confère une protection contre les fortes températures (les enzymes thermosensibles se trouvant dans la gaine fasciculaire) et une faible photorespiration (le taux de CO<sub>2</sub> étant suffisamment élevé pour que le Rubisco ne fonctionne qu'en carboxylase) (Zhu et Meinzer, 1999). Les plantes en C4 ont une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau que les plantes en C3 en conditions d'illumination et de température élevées (Broetto et al., 2007).

## 6. Objectifs du travail

L'objectif principal de cette étude consiste à explorer le potentiel de phytoextraction du Cd chez une espèce xéro-halophyte peu étudiée *Atriplex nummularia* L., dans un sol salin contaminé par le Cd.

Un intérêt particulier a été porté à l'étude des paramètres de croissance des plantes et à certains mécanismes d'adaptation à savoir : l'accumulation et la translocation du Cd entre les parties racinaires et aériennes.

## Chapitre II: Matériels et Méthodes

Ce travail s'inscrit dans la perspective de tester si l'espèce halo-xérophyte *Atriplex nummularia* L. qui est un arbuste vivace de métabolisme de type C4 présente, en plus de sa résistance aux stress hydrique et salin, une résistance au stress métallique. Notre étude a été réalisée à la fois au laboratoire de Biochimie de l'Université de Khemiss Meliana et le laboratoire de Pédologie de l'Institut National d'Agronomie (INA).

### **2.1. Conditions de culture**

Les plantules d'*Atriplex nummularia*L. (*Chenopodiaceae*), âgés de deux mois (collectés dans la région de Tademaït dans la province de Djelfa (Algérie), sont transférés individuellement dans des pots en plastique (21,5 cm de hauteur et 24 cm de diamètre) remplis avec la même quantité de substrat (2/3 tourbe et 1/3 sable). L'apport en oligoéléments est assuré par une irrigation régulière (une fois par semaine) de solution nutritive d'Hoagland. Après deux semaines d'acclimatation sous serre, les plantes ont été traitées pendant cinq semaines avec différentes doses de chlorure de sodium NaCl (0,2 et 6g/l) en présence ou non de chlorure de cadmium ( $\text{CdCl}_2$ , 20  $\mu\text{M}$ ). Les plantes traitées ont été arrosées trois fois par semaine avec 200 ml de solution contenant les différentes concentrations salines.

### **2.2. Le dispositif expérimental**

Au début de l'expérimentation, les plantules ont été divisées en 6 groupes expérimentaux avec 5 plantes par chaque groupe de traitement. Le dispositif expérimental est présenté dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Dispositif expérimental

Traitements	Concentrations Cd en 20 $\mu$ M	Concentration de NaCl en g/l
0/0	0	0
0/2	0	2
0/6	0	6
Cd/0	20	0
Cd/2	20	2
Cd/6	20	6

### **2.3. Techniques analytiques**

#### **2.3.1. Paramètres de Croissance**

##### **2.3.1.1. Détermination de la matière sèche**

Au terme des traitements, les plantes ont été coupées et séparées en racines et parties aériennes. Chaque organe a été pesé immédiatement pour la détermination de sa matière fraîche (MF). Les racines, préalablement rincées avec de l'eau du robinet deux fois avec de l'eau déminéralisée, et les parties aériennes sont placées dans une étuve à 65°C pour la détermination de leur masse de matière sèche (MS).

##### **2.3.1.2. Détermination de l'indice de succulence**

L'indice de succulence est le rapport de matière fraîche/matière sèche. Cette succulence accrue permet la mise en réserve d'une importante quantité d'eau par rapport à la surface de transpiration. La plante peut réduire sa transpiration en fermant ses stomates. La réduction de la transpiration améliore l'état hydrique des tissus car les racines continuent à absorber l'eau alors que la transpiration est réduite.

## **2.3.2. Paramètres Physiologiques**

### **2.3.2.1. Extraction et dosage des sucres solubles totaux**

Les sucres solubles totaux ont été dosés par la méthode de **Dubois et al. (1956)**, elle consiste à mettre 100mg de matière fraîche dans des tubes à essai contenant 2 ml d'éthanol à 80%. On laisse à température ambiante pendant 48 heures. Au moment du dosage, les tubes sont placés dans une étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans chaque tube, on ajoute 20ml d'eau distillée. C'est la solution à analyser. Dans des tubes à essai propres, on introduit 1ml de la solution à doser auquel on ajoute 1ml de phénol à 5%. Les tubes sont soigneusement agités. On ajoute alors 5ml d'acide sulfurique concentré (96 %, d=1,89) à l'aide d'une burette dont le jet tombe brutalement sur la surface du liquide. La température atteint alors environ 110°C. Après une agitation rapide au vortex, les tubes sont maintenus pendant 45mn à 5°C. Après un séjour de 30mn à l'obscurité, les mesures d'absorbance sont effectuées à une longueur d'onde de 490 nm. Enfin, les concentrations ( $\mu\text{g/g MF}$ ) sont calculées à partir de l'équation déduite de la gamme d'étalonnage.

### **2.3.2.2. Dosage des chlorophylles**

Les chlorophylles ont été extraites et dosées à partir de 200 mg de feuilles selon la méthode décrite par **Harborne (1984)**. Des quantités de 0,2g des feuilles fraîches ont été prélevés dans chaque plante, on les lave avec de l'eau distillée puis les mettre dans des boîtes noires (pour éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière). La mesure de la teneur en chlorophylles a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à deux longueurs d'ondes (648 et 664 nm). Les teneurs en pigments, exprimées en  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ , sont calculées à partir les équations suivantes:

$$C_a = 13,36A_{664,2} - 5,19A_{648,6}$$

$$C_b = 27,43A_{648,6} - 8,12A_{664,2}$$

$$C_{a+b} = 5,24A_{664,2} + 22,24A_{648,6}$$

( $C_a$  et  $C_b$  : Concentration en chlorophylles a et b ;  $C_{a+b}$  : Concentration en chlorophylle totale).

### **2.3.3. Analyse de l'accumulation du cadmium**

#### **2.3.3.1. Détermination de la quantité de Cd excrétée sur la surface des feuilles**

La détermination de l'excrétion du Cd sur la surface des feuilles a été réalisée selon la méthode de **Hagemeyer et Waisel (1988)**. La partie supérieure de la plante est lavée avec 100 ml d'une solution d'acide nitrique 0,1 % (v/v) pendant 2 minutes. Une telle procédure de rinçage complète a été appliquée afin de dissoudre tous les composés sur la surface de la feuille et à l'intérieur des cryptes. Le dosage du Cd est réalisé par spectrométrie d'émission atomique (Perkin-Elmer Analyst 300) sur des extraits préalablement filtrés.

#### **2.3.3.2. Dosage du Cd accumulé par les plantes**

La détermination de la quantité du Cd accumulée par les plantes d'*Atriplex nummularia* a été réalisée selon la méthode décrite par **Soon (1998)**. Le matériel végétal préalablement séché, pesé puis broyé, est soumis à une incinération à l'aide d'un four à moufle pendant 4 ou 5 heures à 600°C. Après incinération et obtention d'un résidu de couleur blanchâtre, un volume standard (10 ml) d'une solution d'HCl (2N) est ajouté à la cendre. La solution est ensuite diluée par ajout de 50 ml d'eau distillée. Les mesures des concentrations en Cd ont été réalisées par spectrométrie d'émission atomique (Perkin-Elmer Analyst 300), sur des extraits préalablement filtrés.

### **2.4. Analyse statistique**

Les expériences ont été répétées au moins trois fois et les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SD. Les différences entre les différents traitements ont été déterminées par l'analyse de variance ANOVA. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du programme Statgraphics (Statgraphics Centurion XV version 15.2.14, StatPoint, inc., USA) et la normalité des échantillons a été vérifiée.

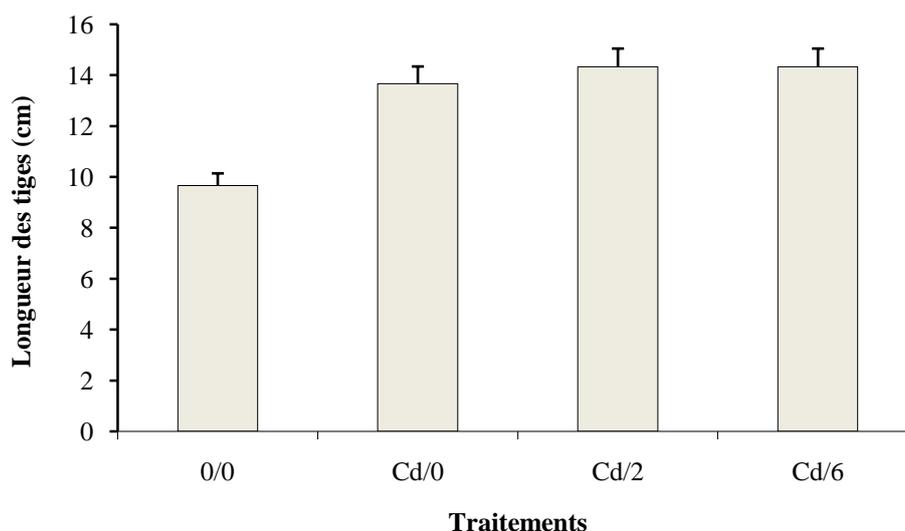
## **Chapitre III: Résultats et Discussion**

### 3.1. Paramètres de croissance

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés en premier lieu à l'effet des différentes concentrations de chlorure de sodium NaCl (0,2 et 6g/l) en présence ou non de chlorure de cadmium ( $\text{CdCl}_2$ , 20  $\mu\text{M}$ ), sur la croissance et le développement d'*Atriplex nummularia*. Pour y parvenir, nous avons mesuré des paramètres biométriques tels que la longueur des tiges, longueur et volume des racines, l'indice de succulence, la biomasse sèche de la partie aérienne et souterraine.

#### 3.1.1. Impact du cadmium sur la longueur moyenne des tiges d'*Atriplex nummularia* L. en fonction de la salinité du milieu

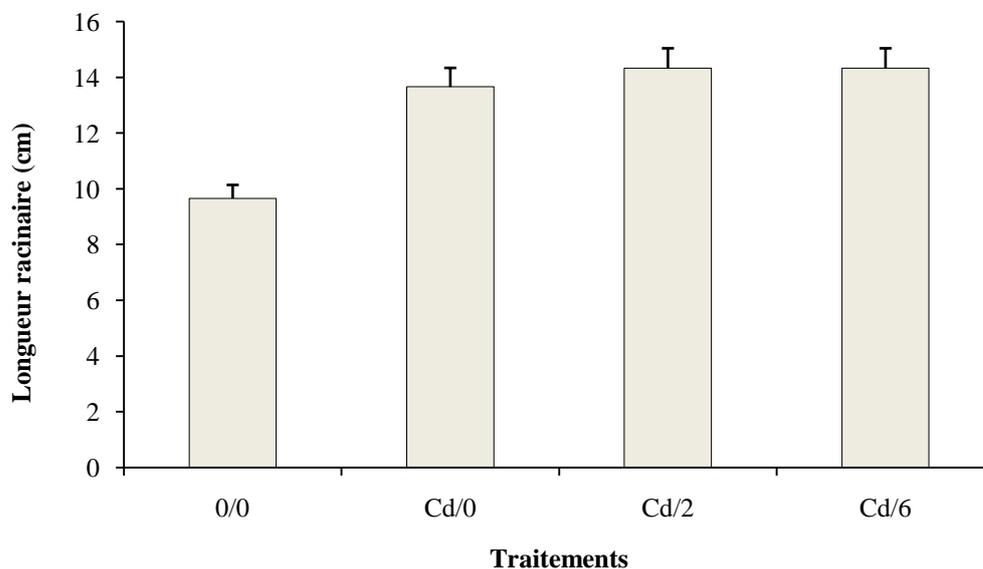
Les résultats obtenus quant aux variations de la hauteur moyenne des plantules d'*Atriplex nummularia* L. traitée par les différentes concentrations d'NaCl et en présence ou non du Cd sont reportés dans la figure 10. On constate que les hauteurs moyennes des plants augmentent progressivement en fonction des concentrations salines et quel que soit le test appliqué et tout particulièrement chez le traitement (Cd/6) où on enregistre une augmentation de plus de 43 % par rapport au témoin (0/0).



**Figure 10.** Variation de la longueur moyenne des tiges en (cm) des plantes d'*Atriplex nummularia* L. cultivées sur un sol pollué ou non par le cadmium (20  $\mu\text{M}$  de  $\text{CdCl}_2$ ) en présence de doses croissantes d'NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions ( $\pm$  SD).

### 3.1.2. Impact du cadmium sur la longueur moyenne des racines d'*Atriplex nummularia* L. en fonction de la salinité du milieu

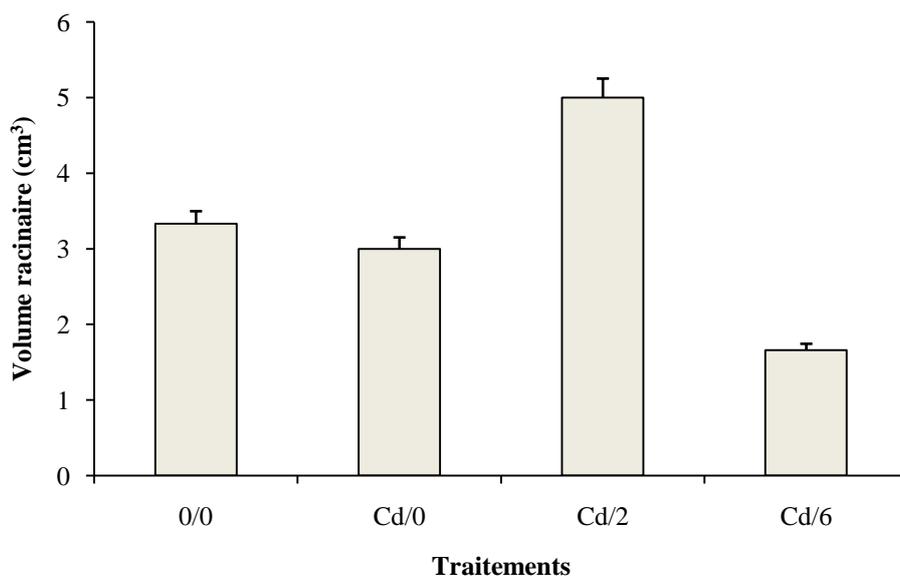
Parallèlement, la figure 11 qui représente, la variation de la croissance racinaire des plantules d'*Atriplex nummularia* L. Cultivées sur un sol contaminé ou non par du cadmium (20  $\mu\text{M}$  de  $\text{CdCl}_2$ ) en présence de doses croissantes de  $\text{NaCl}$  (0, 2 et 6 g/l), montre que les traitements : Cd/0, Cd/2 et Cd/6 stimulent la longueur moyenne des racines d'une manière similaire équivalente à 29% par apport au témoin.



**Figure 11.** Variation de la croissance racinaire en (cm) des plantules d'*Atriplex nummularia* L. cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20  $\mu\text{M}$  de  $\text{CdCl}_2$ ) en présence de doses croissantes de  $\text{NaCl}$  (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions ( $\pm$  SD).

### 3.1.3. Impact du cadmium sur le volume des racines d'*Atriplex nummularia* L. en fonction de la salinité du milieu

D'après la figure 12, qui représente l'effet du Cd sur le volume des racines d'*Atriplex nummularia* en présence ou non d' $\text{NaCl}$ , présente des variations non significatives pour l'ensemble des traitements à l'exception du traitement (Cd/2) où on enregistre la plus grande valeur (5 $\text{cm}^3$ ) équivalente à 50% par apport au témoin.



**Figure 12.** Variation du volume racinaireen (cm<sup>3</sup>) des plantules d'*Atriplex nummularia* L. cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 µM de CdCl<sub>2</sub>) en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions (± SD).

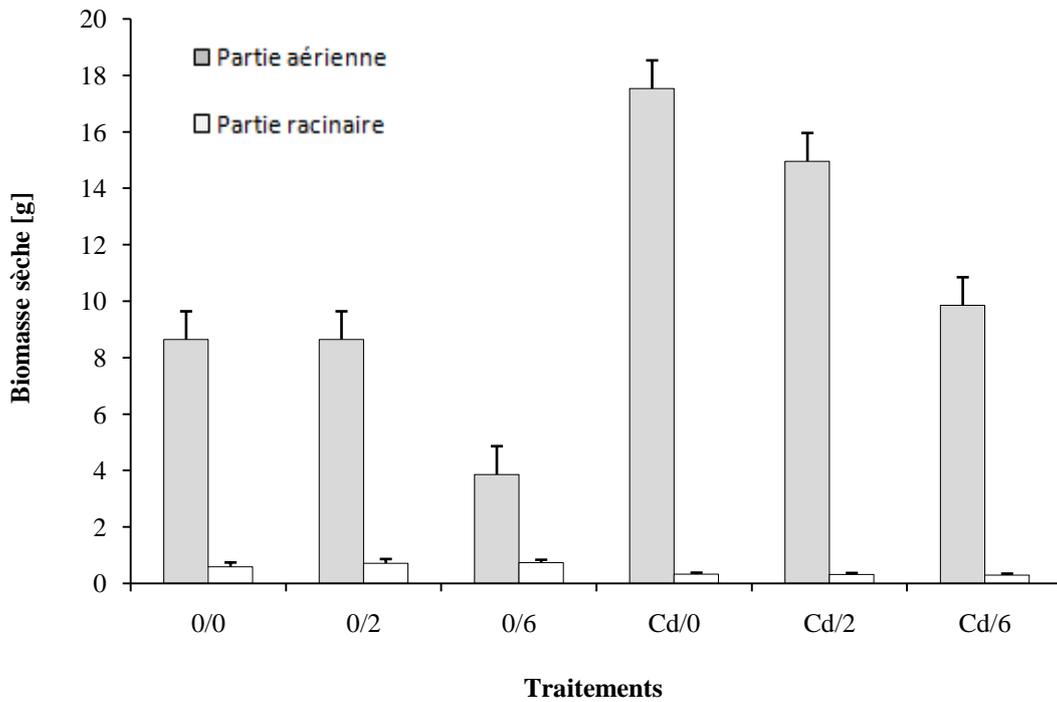
En général et selon nos résultats (figures 10, 11 et 12), les effets de stress salin se manifestent généralement chez les halophytes par une stimulation de la croissance jusqu'à un seuil qui diffère d'une espèce à une autre et d'un organe à un autre selon les conditions salines (nature et concentration du sel). En effet, au-delà de ce seuil, le cadmium devient toxique et affecte négativement la croissance de la plupart des végétaux. Plusieurs études ont montré que la présence du cadmium dans le milieu de culture peut se traduire, au-delà d'une certaine limite, par l'apparition de symptômes d'intoxication, accompagnées d'une inhibition de la croissance pondérale des plantes (Ouariti et al., 1997 ; Djebali et al., 2002; Ghnaya et al., 2005; Zorrig et al., 2010 ). Cette inhibition affecte beaucoup plus les organes aériens que racinaires (Djebali et al., 2005). Ces effets toxiques sont dus à la vulnérabilité de plusieurs processus physiologiques et biochimiques du cadmium et peuvent être liés, entre autres, à la perturbation de l'équilibre de certaines hormones de croissance, notamment l'auxine (Hasenstein et al., 1988). Il est important de noter que le cadmium n'affecte pas la croissance de toutes les plantes avec la même sévérité. Selon Manousaki et Kalogerakis (2011), les halophytes sont potentiellement résistants non seulement aux sels mais aussi aux métaux lourds et à d'autres contraintes.

**Bajji et al. (1998)**, rapportent que le taux de croissance relatif à la partie aérienne décroît en réponse de 150 mM de NaCl alors que les racines ne sont pas affectées. Ce qui confirme la nature halophile d'*Atriplex halimus*. Selon **Osmond et al. (1980)**, les halophytes comme *Atriplex sp*, montrent une stimulation de la croissance aux fortes concentrations d'NaCl, cependant ces mêmes concentrations sont inhibitrices chez les glycophytes. **Ashby et Beadle (1957)**, indiquent également que la croissance chez *Atriplex inflata* et *Atriplex nummularia* est plus importante à 600mM de NaCl.

#### **3.1.4. Impact du cadmium sur la biomasse d'*Atriplex nummularia* L. en fonction de la salinité du milieu**

Les plantes cultivées dans un environnement salin ont des parties aériennes inférieures sèches, un des symptômes de la toxicité au sel. Dans notre expérience, les plantes d'*Atriplex nummularia* traitées avec 0, 2 et 6 g/l de NaCl en absence de Cd ne développent aucun signe visible de toxicité au sel de sodium (non montré). La figure 13 représente la variation de la biomasse en matière sèche (MS) des parties aériennes et racinaires d'*Atriplex nummularia* suite aux différents traitements (Série 0/NaCl : 0/0 ; 0/2 et 0/6 en absence de traitement au Cd, et série Cd/0 ; Cd/2 et Cd/6 en présence de CdCl<sub>2</sub> 20 µM). On observe que la matière sèche des parties racinaires n'est pas affectée par le traitement salin seul, même pour la plus forte concentration de NaCl (0,73 g/plante en présence de 6 g/l de NaCl vs 0,58 g chez le témoin). Dans les parties aériennes, le traitement salin à 2 g/l n'affecte pas la biomasse alors qu'une diminution de celle-ci, de 53% environ, est observée après un traitement à 6 g/l, passant de 8,64 g de matière sèche (0/0) à 3,86 g (0/6). Lorsque le traitement salin est combiné au traitement avec le Cd, une réduction drastique de la biomasse au niveau racinaire est observée par rapport au traitement salin seul. La matière sèche varie de 0,73 g (0/6) à 0,298 g (Cd/6), soit une diminution de 59 %. Une réduction tout-à-fait similaire apparaît même en absence du traitement salin. Contrairement aux parties racinaires, la biomasse des parties aériennes a tendance à augmenter en présence de Cd. Elle passe de 8,64 g (0/0) à 17,53 g de matière sèche (Cd/0), de 8,64 g (0/2) à 14,95 g (Cd/2) en présence de NaCl à 2 g/l, et de 3,86 g (0/6) à 9,85g pour la plus forte concentration de

NaCl (Cd/6). En revanche, l'apport en sel à forte dose (6 g/l) affecte la biomasse qui est alors de l'ordre de 3,86 g / plante, mais qui demeure cependant bien inférieure à la valeur obtenue en présence de traitement au Cd (9,85 g). Il semble donc que la présence de Cd améliore clairement la fitness d'*Atriplex nummularia*.



**Figure 13.** Variation de la biomasse sèche (g/plante) des parties aérienne et racinaire des plantes d'*Atriplex nummularia* L. cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20  $\mu$ M de  $\text{CdCl}_2$ ) en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions ( $\pm$  SD).

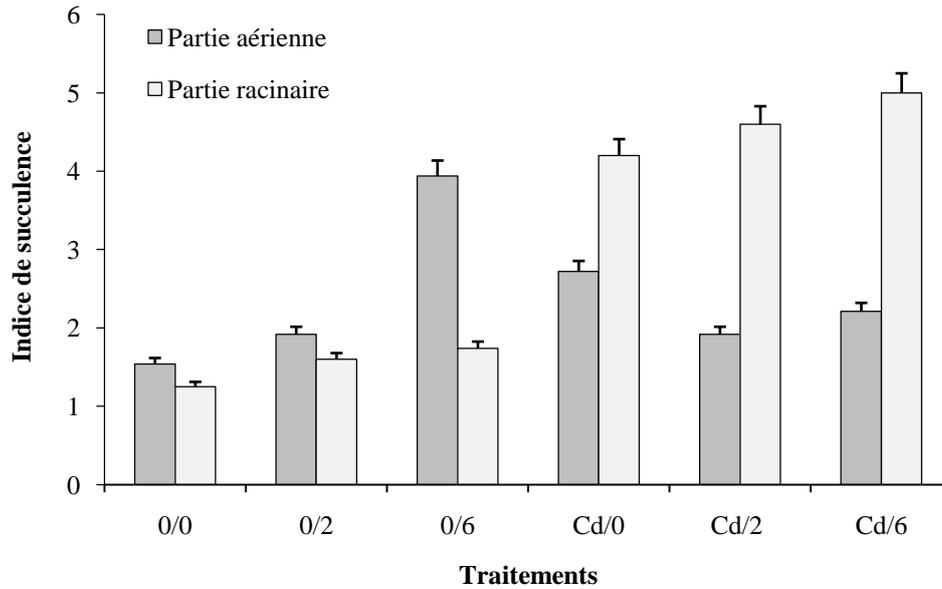
En effet, l'ajout du Cd seul dans le milieu de culture améliore la production de la biomasse. Des faibles concentrations de Cd agissent positivement sur la vitesse de croissance et par conséquent sur la production de biomasse d'*Atriplex nummularia* qui semble mieux résister à un stress Cd qu'une autre plante halophyte *Tamarix smyrnensis* (Manousakiet *al.*, 2008). Sbartai et *al.*, (2008) et Zoughlami et *al.*, (2006) ont mis en évidence ce même phénomène positif en expliquant le rôle synergique que pourrait jouer le Cd à faible concentration dans l'amélioration de l'absorption des oligoéléments chez *Lycopersicum esculentum*. En revanche, la présence de Cd combinée à celle de NaCl diminue la biomasse, surtout aux plus fortes concentrations salines. Ces valeurs restent toutefois supérieures à celles du contrôle et

du traitement salin seul et confirment donc l'effet positif du mélange Cd/NaCl sur la fitness de la plante.

Enfin, l'effet toxique du traitement salin seul sur la production de biomasse n'est visible qu'à la concentration de 6 g/l (102,6 mM), mais ne l'est pas à la concentration de 2 g/l (34 mM). Néanmoins, il semble qu'*Atriplex nummularia* soit une plante halophyte plus sensible au NaCl que *Sesuvium portulacastrum* qui résiste à des concentrations de 200 mM (11,3 g/l) et qui croît mieux dans ces conditions de culture (Mariem et al., 2014). La croissance de *Tamarix smyrnensis* est peu affectée à la concentration de 5 g/l et l'est énormément à la concentration de 30 g/l (532 mM) (Manousaki et al., 2008).

### **3.1.5. Impact du cadmium sur l'indice de succulence chez *Atriplex nummularia* L. en fonction de la salinité du milieu**

L'indice de succulence (matière fraîche/matière sèche) au niveau de la partie racinaire augmente avec la concentration en NaCl (0,2 ; 6g /l) et en présence du CdCl<sub>2</sub> (20 µM) (figure 14). Il passe de 1,25 chez le témoin sans sel (0/0) à 5 pour les plantes cultivées dans le milieu contenant du NaCl (6g/l) combiné avec le CdCl<sub>2</sub>(20 µM), c'est-à-dire le traitement (Cd/6).Cependant, au niveau de la partie aérienne, l'indice de succulence augmente chez les traitements avec stress salin et en absence de pollution métallique dans le milieu de culture par rapport au témoin, allant de 1,54 pour le traitement (0/0) à 3,94 pour le traitement (0/6). Puis il diminue progressivement chez les traitements salins et en présence de cadmium (Cd/0, Cd/2, Cd/6) (figure 14).



**Figure 14.** Variation de l'indice de succulence (MF/MS) des parties aérienne et racinaire des plantes d'*Atriplex nummularia* L. cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20  $\mu$ M de  $\text{CdCl}_2$ ), en présence de doses croissantes de NaCl (0,2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions ( $\pm$  SD).

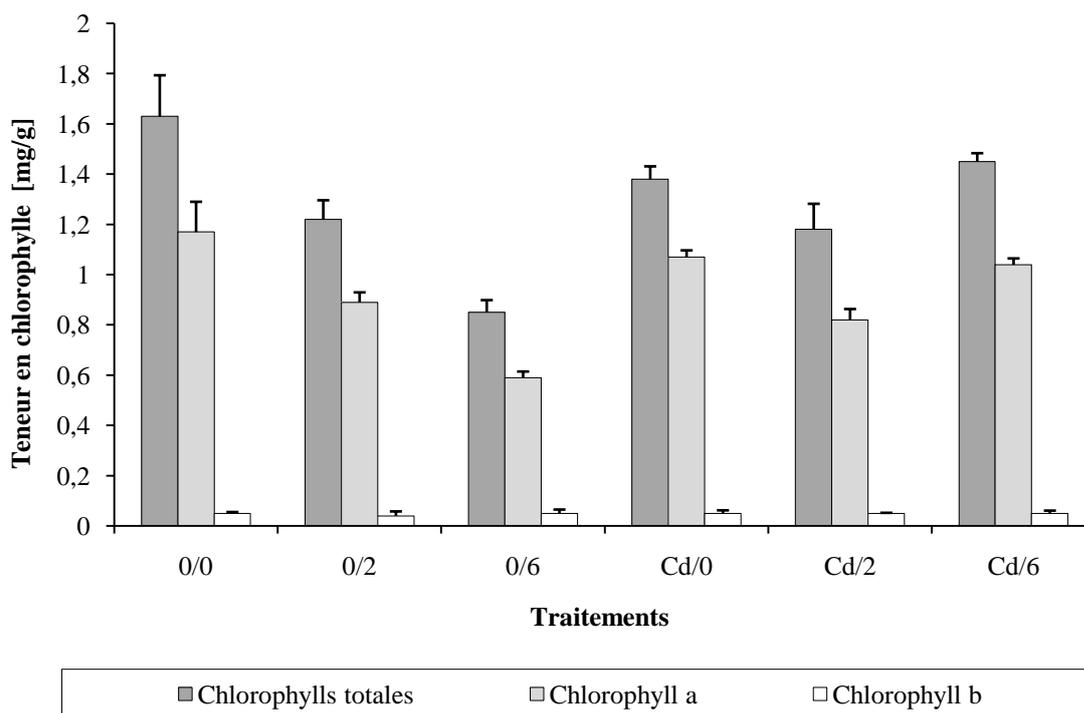
Le calcul de l'indice de succulence (matière fraîche/matière sèche) au niveau de la partie racinaire, montre que celui-ci augmente avec la concentration en sel et en présence du cadmium, alors qu'il varie faiblement pour la partie aérienne. Cette succulence accrue permet la mise en réserve d'une importante quantité d'eau par rapport à la surface de transpiration (**Touchette, 2006**). La plante peut réduire sa transpiration en fermant ses stomates. La réduction de la transpiration améliore l'état hydrique des tissus car les racines continuent à absorber l'eau alors que la transpiration est réduite. La signalétique du contrôle stomatique fait intervenir des messages de type chimique qui transitent entre les racines et les feuilles par la sève xylémienne, en particulier le pH de la sève (**Wilkinson et Davies, 1997**) et la concentration d'une hormone végétale (l'acide abscissique) synthétisée par les organes en dessèchement (**Janicka-Russak et Klobus, 2007**). Les plantes qui synthétisent cette hormone gardent un état hydrique plus favorable et survivent plus longtemps au stress salin (**Limiting et Zhu, 2003**). La fermeture, même partielle, des stomates au cours de la journée limite instantanément les pertes en eau par transpiration, évite la déshydratation de la plante et, à plus long-terme, préserve la réserve hydrique de la plante, contribuant ainsi à stabiliser le rendement. Cependant, le flux de transpiration étant indissociable du flux d'absorption du  $\text{CO}_2$ , une diminution de la conductance des

stomates limite directement l'assimilation carbonée et réduit ainsi l'efficacité instantanée de la transpiration (Debez et al., 2006). En situation d'alimentation hydrique insuffisante, la production par les racines de signaux chimiques contrôlant l'ouverture stomatique a été démontrée chez de nombreuses halophytes (He et Cramer, 1996 ; Lu et al., 2002).

### **3.2. Paramètres physiologiques**

#### **3.2.1. Impact d'un traitement au cadmium associé à un stress salin sur la synthèse chlorophyllienne chez *Atriplex nummularia* L.**

La figure 15 montre que le traitement salin seul perturbe la teneur en chlorophylles totales qui diminue en fonction des concentrations croissantes de NaCl. Cette diminution peut atteindre 48 % à la plus forte concentration (6 g/l) de NaCl (0,85 mg/g de matière fraîche vs 1,63 mg/g chez le témoin). Cette diminution est essentiellement liée à une réduction de la teneur en chlorophylle a (Figure 15). Les valeurs de la teneur en chlorophylle b varient peu, quelle que soit la concentration en NaCl. Par contre, en présence de Cd, la plante semble être protégée, les teneurs en chlorophylles sont moins affectées et cela est particulièrement visible en présence de la concentration de 6 g/l en NaCl.

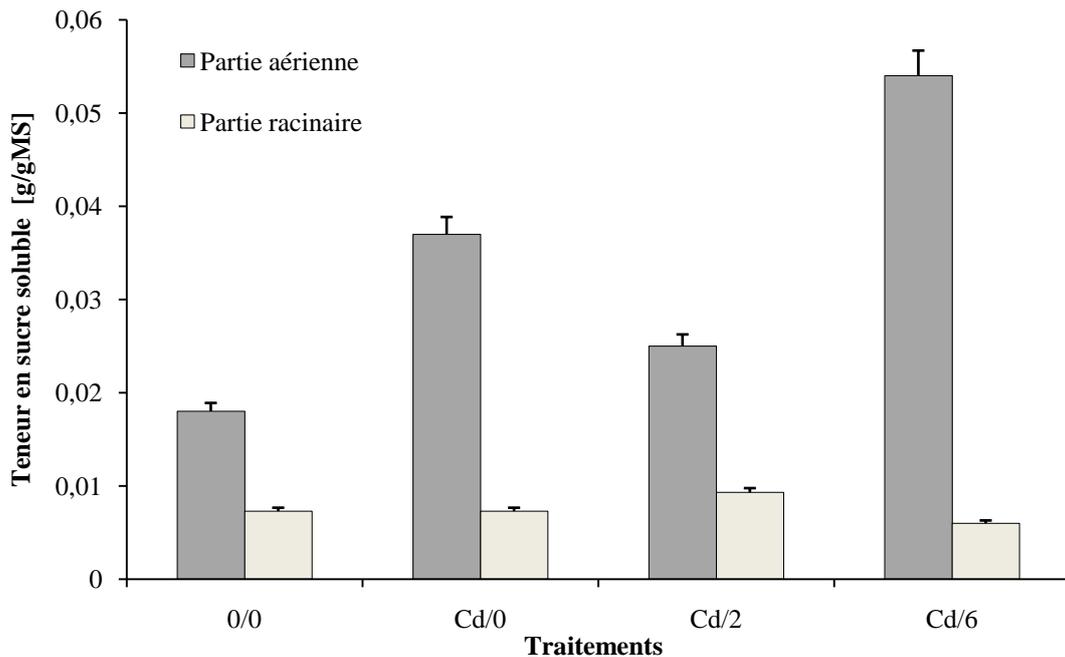


**Figure 15.** Variations des teneurs en chlorophylles a, b et totales (mg/g) dans les feuilles d'*Atriplex nummularia* cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium ( $20 \mu\text{M}$  de  $\text{CdCl}_2$ ) en présence de concentrations croissantes de NaCl (0,2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions ( $\pm$  SD).

La diminution de la quantité des chlorophylles est un symptôme de toxicité chez les plantes. Une telle diminution provoquée par le stress cadmique a été observée chez les plantes halophytes *Tamarix smyrnensis* (Kadukova et al., 2008) et *Mesembryanthemum crystallinum* (Ghnaya et al., 2005). Durant notre expérimentation, la diminution du taux de chlorophylle n'est observée qu'en présence de NaCl, alors que la présence de Cd et du mélange Cd/NaCl améliorent ce même taux. Ceci confirme une fois de plus le rôle positif des faibles concentrations de Cd sur la plante *Atriplex nummularia*. Ce qui est à relier avec les observations faites précédemment sur la croissance de la plante. *Sesuvium portulacastrum* est une autre plante halophyte qui semble être également tolérante au Cd (Ghnaya et al., 2005, Mariem et al., 2014).

### 3.2.2. Impact d'un traitement au cadmium associé à un stress salin sur la teneur en sucres solubles chez *Atriplex nummularia* L.

La figure 16 représente la variation de la teneur en sucre soluble des parties aériennes et racinaires d'*Atriplex nummularia* suite aux différents traitements (Série 0/NaCl : 0/0 ; 0/2 et 0/6 en absence de Cd et série Cd/0 ; Cd/2 et Cd/6 en présence de 20  $\mu\text{M}$  CdCl<sub>2</sub>). L'addition d'une forte concentration de NaCl (Cd/6) au milieu de culture et en présence de CdCl<sub>2</sub> (20  $\mu\text{M}$ ) produit une forte variation de la teneur en sucre, avec une augmentation de plus de 150 % par rapport au témoin chez la partie aérienne où la teneur passe de 0,018 g/g MS pour le témoin à 0,054 g/g MS pour le traitement (Cd/6). En revanche, aucune modification de la teneur en sucres solubles dans la partie racinaire n'est observée en présence de cadmium ou/et d'NaCl en comparaison avec le témoin (figure 16).



**Figure 16.** Evolution des teneurs en sucres solubles totaux des tissus de la partie aérienne et de la partie racinaire des plantules d'*Atriplex nummularia* cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20  $\mu\text{M}$  de CdCl<sub>2</sub>) en présence de concentrations croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions ( $\pm$  SD).

L'accumulation des sucres solubles dans les feuilles a été largement rapportée comme une réponse au stress salin et /ou métallique. En effet, chez plusieurs espèces halophytes, comme *Suaeda physophora* (Song et al., 2006b) et *Kochia prostrata* (Karimi et al., 2005), ces études ont montré que l'ajout du sel dans le milieu de culture entraîne une augmentation de ces solutés au niveau de la plante. Les sucres solubles participeraient au phénomène d'ajustement osmotique (Arbona et al., 2005). Les sucres accumulés viennent essentiellement de l'hydrolyse des réserves d'amidon ou du blocage de la glycolyse (Hare et al., 1998). Dubey et Singh (1999) ont observé une dégradation de l'amidon accompagnée d'une augmentation des teneurs en sucres solubles qui peut être attribuée à une augmentation de l'activité de l'amidon phosphorylase, à celle du glucose phosphatase synthétase et à une diminution de l'activité de l'invertase. Pareillement, l'accumulation des sucres solubles peut être aussi due à la présence des métaux lourds dans le milieu de culture, à l'exemple de ce qui a été rapporté, pour l'arsenic, par Jha et Dubey (2004), résultat d'une altération des activités enzymatiques notamment l'invertase acide, le saccharose synthase et l'amidon phosphorylase. Costa et Spitz (1997) observent également une perturbation de la teneur en glucides solubles sous l'effet du Cd qui résulterait de l'action des radicaux libres produits. Une augmentation de la photosynthèse paraît en effet peu vraisemblable pour se rendre compte de l'augmentation des sucres solubles observée, le Cd produisant un abaissement de 15 % de la teneur en pigments.

### **3.3. Analyse de l'accumulation du cadmium**

L'accumulation de cadmium a été évaluée, d'une part, à travers les mesures de teneurs en cadmium des racines et des parties aériennes et, d'autre part, à travers la détermination de la proportion de cadmium accumulé dans les parties aériennes par rapport à la quantité totale de cadmium absorbé par la plante. La détermination de cette dernière variable avait pour objectif de se rendre compte de la capacité de translocation du cadmium des racines vers les parties aériennes.

### 3.3.1. Accumulation du cadmium chez *Atriplex nummularia* L. en fonction de la salinité du milieu

Nos résultats montrent que l'ajout de 20  $\mu\text{M}$  de Cd dans le milieu de culture en absence de chlorure de sodium augmente la quantité du métal dans les parties aériennes, qui passe de 0,31 à 0,59  $\mu\text{g/g}$  MS (2 fois la valeur du témoin), alors que dans les racines, la quantité de Cd accumulée passe de 0,48 à 0,57  $\mu\text{g/g}$  de MS (Tableau 4). Dans notre expérience, les cultures ont été irriguées avec de l'eau du robinet qui s'est avérée être contaminée par le Cd, ce qui explique la présence de Cd dans les cultures en absence théorique de Cd (0/0 ; 0/2 et 0/6). Nous observons que l'addition du NaCl avec le Cd dans le milieu de culture modifie l'accumulation de ce dernier dans la plante. En effet, les teneurs endogènes en Cd augmentent dans la plante avec l'augmentation de la teneur exogène de la salinité. Cet effet est plus prononcé dans les parties aériennes avec une accumulation maximum de 1,07  $\mu\text{g/g}$  de MS par rapport aux parties racinaires où l'accumulation du Cd est constante, équivalente en moyenne à 0,52  $\mu\text{g/g}$  de MS.

En outre, le tableau 4 montre que la salinité affecte de manière significative la translocation du Cd des racines vers les parties aériennes d'*Atriplex nummularia*L. (rapport A/R). Ce rapport évolue de 1,04 pour le traitement sans sel (Cd/0) à 1,48 chez le traitement avec 2 g/l du sel (Cd/2), pour finalement atteindre la valeur de 1,88 chez les plantes traitées avec 6 g/l de NaCl (Cd/6). Les mêmes observations ont été enregistrées en mesurant la quantité totale de Cd dans la plante (Tableau 4). Effectivement, l'ajout du Cd dans le milieu de culture en absence de sel fait augmenter son accumulation dans les parties aériennes où sa valeur est de 10,34  $\mu\text{g}$  largement supérieure au témoin (2,68  $\mu\text{g}$ ). Ces valeurs sont légèrement améliorées en présence de NaCl où l'accumulation totale de Cd atteint 10,82  $\mu\text{g}$  au cours du traitement (Cd/2) et 10,85  $\mu\text{g}$  à la plus forte concentration (Cd/6). Contrairement aux parties aériennes, son accumulation dans les racines reste inchangée quelles que soient les concentrations de NaCl dans le milieu de culture.

Chez les plantes, la salinité est un facteur clé dans la translocation des métaux des racines vers les parties aériennes. Notre étude montre que l'accumulation de Cd dans les feuilles d'*Atriplex nummularia* augmente en fonction des concentrations croissantes de NaCl.

**Tableau 4 :** Dosage du cadmium dans les tissus d'*Atriplexnummularia* cultivé pendant cinq semaines sur un sol contaminé ou non par 20 µM de Cd en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de répétitions individuelles ± SD. Les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas significatives.

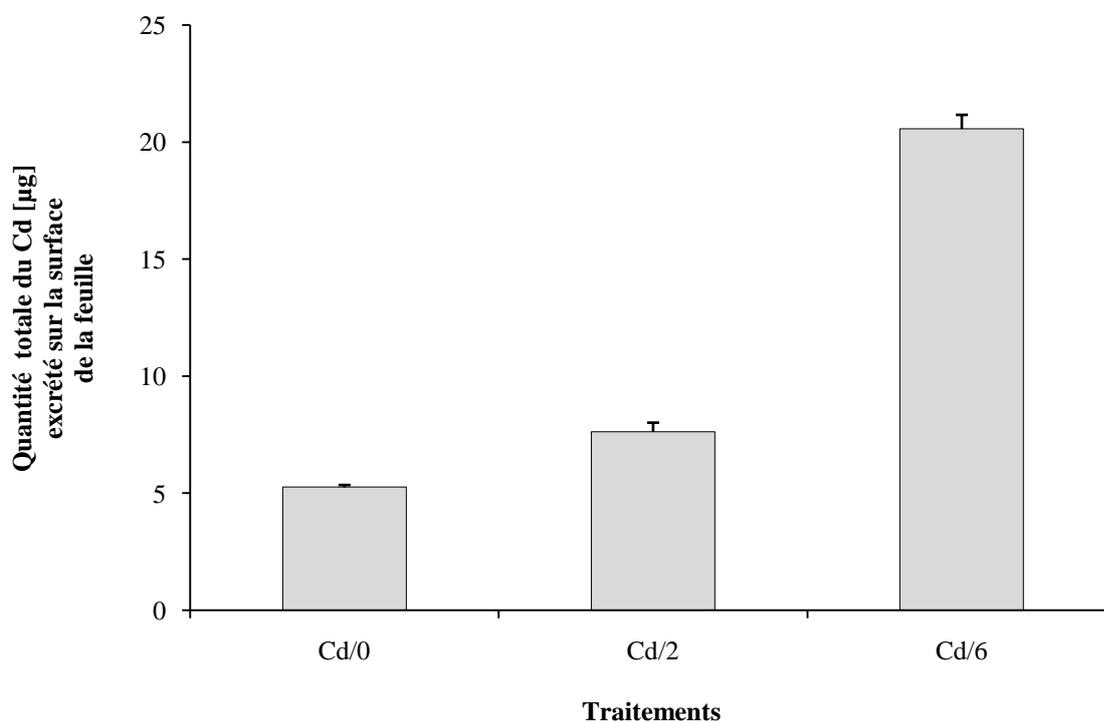
Traitements	Teneur en Cd (µg/g MS)			Cd Total (µg)	
	Partie aérienne	Partie racinaire	Rapport	Partie aérienne	Partie racinaire
	(A)	(R)	A/R		
Cd : 0 ; NaCl : 0	0,31 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,48±0,10 <sup>a</sup>	0,65	2,679±0,07	0,280 ±0,02
Cd : 0 ; NaCl : 2g/l	0,46 ± 0,29 <sup>a</sup>	0,26±0,18 <sup>a</sup>	1,77	3,975±0,18	0,185 ±0,03
Cd :0 ; NaCl : 6 g/l	0,13 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,23±0,12 <sup>a</sup>	1,57	0,532±0,01	0,168 ±0,01
Cd 20 µM ; NaCl: 0	0,59 ± 0,12 <sup>a</sup>	0,57± 0,11 <sup>b</sup>	1,04	10,344±0,17	0,185± 0,01
Cd 20 µM ; NaCl : 2g/l	0,71 ± 0,44 <sup>b</sup>	0,48± 0,17 <sup>a</sup>	1,48	10,823±0,73	0,153± 0,01
Cd 20 µM ;NaCl : 6 g/l	1 ,07 ± 0,38 <sup>c</sup>	0,57± 0,17 <sup>b</sup>	1,88	10,857 ± 0,63	0,182 ±0,01

Nos résultats diffèrent de ceux de **Mariem et al., (2014)** obtenus avec *Sesuvium portulacastrum* qui montrent que chez cet halophyte la concentration de Cd n'augmente pas lorsque la concentration saline augmente dans le milieu de culture. Chez *Sesuvium portulacastrum*, le sel empêche la translocation du Cd vers les parties aériennes. Des données similaires ont également été observées avec le plomb chez *Atriplex halimus* (**Kadukova et al., 2007**). Par contre, le comportement d'*Atriplex nummularia* se rapproche de celui de l'orge. En effet, **Wahla et Kikham (2008)** ont montré que chez l'orge la translocation du Cd dans les feuilles est plus élevée en présence qu'en absence de NaCl dans le sol. Il apparaît clairement que le comportement du Cd et notamment sa translocation diffère d'une espèce à l'autre.

Cependant, d'autres expériences doivent être envisagées avec l'utilisation de concentrations plus importantes de Cd afin de voir si *Atriplex nummularia* est capable d'accumuler autant de Cd que *Sesuvium portulacastrum* qui l'accumule à des concentrations supérieures à 100 µg / g de feuilles qui sont celles trouvées chez les plantes accumulatrices de métaux (Kraemer, 2010 ; Mariem et al., 2014).

### 3.3.2. Détermination de la quantité de cadmium excrétée à la surface des feuilles d'*Atriplex nummularia* L.

La figure 17 illustre l'excrétion du Cd à la surface des feuilles en fonction des différents traitements effectués. Cette excrétion augmente au fur et à mesure que la concentration en NaCl augmente. Elle passe de 5,26 µg (Cd/0) pour atteindre un maximum de 20,57µg à la plus forte concentration de NaCl (6 g/l NaCl) (Cd/6).



**Figure 17.** Quantité du Cadmium excrétée à partir du tissu des feuilles d'*Atriplex nummularia* traitées avec 20µM de Cd en présence de concentrations croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions (±SD).

Chez de nombreuses espèces d'halophytes, la résistance au stress salin est associée à la présence d'organes spécialisés tels que les poils vésiculaires (trichomes) et les glandes excrétrices à la surface des feuilles qui leur donnent un aspect blanchâtre plus ou moins luisant (Malcolm et al., 2003 ; Manousaki et al., 2011). Ces structures anatomiques sont spécialisées dans l'élimination du Na<sup>+</sup> qui arrive au niveau des feuilles, à travers le xylème, puis au niveau du mésophylle. Le Na<sup>+</sup> est emmagasiné dans ces trichomes avant qu'il ne soit excrété par la dégénérescence de ces derniers, empêchant ainsi l'accumulation toxique de ce cation dans les tissus foliaires (Barhomi et al., 2007). Cependant, il a été constaté que les glandes excrétrices des plantes du genre *Tamarix aphylla* ou *smyrnensis* ne sont pas sélectives. En effet, la composition des sécrétions par les feuilles de cette plante varie en fonction de la composition du milieu et peut contenir des métaux tels que le Cd (Hagemeyer et Waisel, 1998 ; Manousaki et al., 2008 ; Storey et Thomson, 1994). Notre étude confirme cette hypothèse : *Atriplex nummularia* excrète le Cd qui est associé aux cristaux de la surface des feuilles. Par ailleurs, l'excrétion du Cd accroît avec l'augmentation de la salinité du milieu. La concentration du Cd excrété par l'halophyte cultivé sur milieu contaminé et salin (2g/l de NaCl) est six fois ( $\approx 6$ ) plus élevée que celle des plantes cultivées sur milieu pollué non salin.

L'excrétion des métaux à la surface des feuilles est sans doute un des moyens qui lui permet de résister au stress métallique (Manousaki et al., 2008). Toutes ces caractéristiques font de *Atriplex nummularia* une plante candidate pour son utilisation dans des stratégies de phytoremédiation.

## Conclusion et Perspectives

La prise de conscience du mauvais état sanitaire des sols conduit évidemment à la question de savoir quels sont les risques, pour la santé publique et pour les écosystèmes, dans chaque situation de pollution. D'une façon générale, la notion de risque inhérent à un polluant quelconque est intimement liée à sa possibilité de transfert vers l'organisme cible.

Concernant les métaux lourds, leurs effets sur les écosystèmes locaux et les mécanismes de leur transfert, du sol aux organismes vivants (notamment les plantes), sont encore mal compris. Il est donc très difficile de prévoir leurs effets à long terme, de modéliser le devenir des polluants d'un site contaminé, d'en évaluer les risques et donc de choisir une stratégie de remédiation.

La phytoremédiation constitue une nouvelle approche permettant de dépolluer les sols contaminés par l'utilisation de plantes. Parmi les différents aspects possibles de cette méthode, figure la phytoextraction basée sur l'absorption et l'accumulation du polluant dans les parties aériennes. Pour être efficace, il est nécessaire de disposer de plantes présentant un potentiel adaptatif conséquent et une biomasse élevée.

Cependant, l'obtention d'un répertoire de gènes jouant un rôle important dans la tolérance des plantes aux métaux lourds afin de développer, à plus longs termes, une approche biotechnologique de phytoremédiation et plus précisément de phytoextraction qui consisterait en particulier à produire des plantes susceptibles d'accumuler, en grandes quantités, des métaux lourds. Le but étant d'utiliser de telles plantes pour la dépollution des sols contaminés.

Ce travail s'inscrit dans la perspective de tester si l'espèce halo-xérophyte *Atriplex nummularia* L. qui est un arbuste vivace de métabolisme de type C4 présente, en plus de sa résistance aux stress hydrique et salin, une résistance au stress métallique.

Nos résultats montrent qu'un traitement salin combiné à la présence de Cd améliore la production de la biomasse ainsi que la fitness de la plante *Atriplex nummularia* L. En revanche, la salinité affecte de manière significative l'accumulation et la translocation du Cd des racines vers les parties aériennes de la plante. Néanmoins, le niveau de toxicité du Cd dans les feuilles des plantes n'est pas atteint; ceci suggère que l'*A. nummularia* utilise un mécanisme d'exclusion afin d'éliminer l'excès des métaux de ses tissus sensibles comme un mécanisme possible de détoxification. L'excrétion du métal augmente avec l'augmentation de la salinité, ce qui confirme le fait que les glandes excrétrices d'*A. nummularia* ne sont pas sélectives, et la composition des sels sécrétés est liée à la composition du milieu racinaire. Finalement, l'espèce xéro-halophyte *Atriplex nummularia* L. pourrait être une nouvelle plante candidate susceptible d'être utilisée dans le domaine de la phytoremédiation. Ces plantes pourraient constituer un modèle intéressant pour l'étude des mécanismes d'exclusion du métal mais également être utilisées pour la culture sur des sols contaminés en métaux. Ceci contribuerait à éviter le risque de contamination de la chaîne alimentaire, via la consommation de fourrage par les animaux ou la consommation directe par l'homme.

En perspective :

Au terme de cette étude, plusieurs points restent à développer. Il serait en effet intéressant d'élargir notre spectre d'étude pour mieux apprécier le phénomène de phytoextraction en tenant compte du choix de la gamme de concentration concernant les deux éléments de stress à savoir : le chlorure de sodium et le chlorure de cadmium et une étude caractéristique plus approfondie du genre *Atriplex* vis-à-vis des contraintes climatiques (sècheresse et salinité) afin de confirmer le potentiel adaptatif de la plante face au stress métallique et par conséquent sa fitness.

Une telle étude devrait ainsi être réalisée sur d'autres végétaux afin d'effectuer un screening de ces plantes vis-à-vis du stress cadmique ou métallique (cas de mixture).

L'utilisation d'autres modèles biologiques tels que les algues et les plantes aquatiques nous permettrons d'identifier des modèles sentinelles comme solution à la bioremédiation des eaux.

## Références Bibliographiques

- Abou El Nasr H.M., Kandil H.M., El Kerdawy E., Dawlat A., Khamis H.S., El-Shaer H.M. (1996)** Value of processed saltbush and *Acacia shrubs* as sheep fodders under the arid conditions of Egypt. *Small Ruminant Research*.24: 15-20.
- Ahmad P., Nabi G., Ashraf M. (2010)** Cadmium-induced oxidative damage in mustard [*Brassica juncea*(L.) Czern.&Coss.] plants can be alleviated by salicylic acid. *S Afr J Bot*, In Press
- Ahsan N., Lee S-H., Lee D-G., Lee H., Lee S.W, Bahk J.D., Lee B-H. (2007)** Physiological and protein profiles alternation of germinating rice seedlings exposed to acute cadmium toxicity. *C R Biologies* 330:735–746
- Aganga A.A., Mthetho J.K., Tshwenyane S. (2003)** *Atriplex nummularia* (Old Man Saltbush): A Potential Forage Crop for Arid Regions of Botswana. *Pakistan Journal of Nutrition* 2 (2), 72-75.
- Alkorta I., Hernandez-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I., Garbisu C. (2004)** Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic. *Environ. Sci. Biotechnol.* 3: 71-90.
- Alloway B.J. (1995)** Heavy metals in soils. Londres: Blackie Academic and Professional. 368p.
- Ann Peer W., Baxter I.R., Richards E.L., Freeman J.L., Murphy A.S. (2005)** Phytoremediation and hyperaccumulator plants. *Topics Curr. Genet.*, Jan 2005, DOI10.1007/4735-100.
- AOUN M. (2009)** Action du cadmium sur les plants de moutarde indienne [*Brassica juncea* (L.) Czern] néoformés à partir de couches cellulaires minces et issus de semis. Analyses physiologiques et rôle des polyamines. Thèse de doctorat, université de Bretagne occidentale. p.135.
- Appel K. et Hirt H. (2004)** Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373-399.
- Arbona V., Marco A.J., Iglesias D.J., Lopez-Climent M.F., Talon M., Gomez-Cadenas A. (2005)** Carbohydrate depletion in roots and leaves of salt-stressed potted *Citrus clementina* L. *Plant Growth Regul.* 46: 153-160.

- Ashby W.C., Beadle N.C.W. (1957)** Studies in halophytes. Salinity factors in the growth of Australian salt bushes. *Ecology*. 38: 344-352.
- Baccouch S., Chaoui A., El Ferjani E. (2001)** Nickel toxicity induced oxidative damage in *Zea mays* shoots. *J.PlantNutr.* 24: 1085-1097.
- Baghour M., Moreno D.A., Villora G., Hernandez J., Castilla N., Romero L., (2001)** Phytoextraction of Cd and Pb and physiological effects in potato plants (*Solanumtuberosum* var. Spunta): Importance of root temperature, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5356-5363.
- Baize D., Sterckeman T. (2001)** Of the necessity of knowledge of the natural pedogeochemical background content in the evaluation of the contamination of soils by trace elements. *Sci. Tot. Environ.* 264: 127-139.
- Bajji M., Kinet J-M., Lutts S. (1998)** Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplexhalimus*L., and their corresponding callus cultures. *Plant Sci.* 137: 131-142.
- Baker A.J.M. (1981)** Accumulators and excluders—strategies in the response of plants to heavy metals. *J Plant Nutr* 3:643– 654
- Baker A.J.M., Brooks R.R. (1989)** Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1: 81-126.
- Baker A.J.M., Reeves R.D., Hajar A.S.M. (1994)** Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspicarulescens* J. et C. Presl (*Brassicaceae*). *New Phytol.* 127: 61-68.
- Balestrasse K.B., Gallego S.M., Benavides M.P., Tomaro M.L. (2005)** Polyamines and proline are affected by cadmium stress in nodules and roots of soybean plants. *Plant and Soil* 270: 343-353.
- Balestrasse KB, Noriega GO, Batlle A, Tomaro ML (2006)** Hemeoxygenase activity and oxidative stress signaling in soybean leaves. *Plant Sci* 170:339–346
- Bani A., Echevarria G., Sulce S., Morel J.L., Mullai A., (2007)** In-situ phytoextraction of Ni by a native population of *Alyssum murale* on an ultramafic site (Albania), *Plant and Soil*, 293 :79-89.
- Barbier O., Jacquillet G., Tauc M., Cougnon M., Poujeol P. (2005)** Effect of heavy metals on, and handling by, the kidney. *Nephron Physiol* 99: p105-110.

- Barcelo J., Poschenrieder C. (1990)** Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *J. Plant Nutr.* 13: 1–37.
- Barhomi Z., Djebali W., A. Smaoui, W. Chaibi, C. Abdelly(2007)** Contribution of NaCl excretion to salt resistance of *Aeluropus littoralis* (Willd) Parl, *Journal of Plant Physiology*, 164: 842-850.
- Barrett-Lennard E.G. (2002)** Restoration of saline land through vegetation. *Agric Water Manage.* 53: 213–226.
- Baryla A., Carrier P., Franck F., Coulomb C., Sahut C., Havaux M. (2001)** Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta* 212: 696-709.
- Benavides M.P., Gallego S.M., Tomaro M.L. (2005)** Cadmium toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17: 21–34.
- Black H., (1995)** Absorbing Possibilities: Phytoremediation. *Environmental Health perspectives*, vol. 103, n° 12 p. 1106-1108.
- BoulilaZoghalmi L., Djebali W., Chaïbi W., Ghorbel M.H. (2006)** Modifications physiologiques et structurales induites par l'interaction cadmium–calcium chez la tomate (*Lycopersicon esculentum*). *C.R. Biologies* 329:702–711
- Bourrelier P.H., Berthelin J. (1998)** Contamination des sols par les éléments en trace : les risques et leur gestion. Paris: Tec & Doc Lavoisier. 42, 440p.
- Briat J-F., Lebrum M. (1999)** Plant responses to metal toxicity. *Plant BiolPathol.* 322: 43–54.
- Broetto F., Duarte H.M., Lüttge U. (2007)** Responses of chlorophyll fluorescence parameters of the facultative halophyte and C3–CAM intermediate species *Mesembryanthemum crystallinum* to salinity and high irradiance stress. *J. PlantPhysiol.* 164: 904-912.
- Cataldo DA, McFadden KM, Garland TR, Wildung RE (1988)** Organic constituents and complexation of nickel(II), iron(III), cadmium(II) and potonium (IV) in soybean xylem exsudates. *Plant Physiol* 86: 734-739.
- Chaney R.L, Malik M., Brown S.L., Brewer E.P., Angle J.S., Baker A.J.M. (1997)** Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology* 8: 279-284.

- Chaoui A., El Ferjani E. (2004)** Impact of cadmium and copper excess on cell wall peroxidases in Pea stems. *Pak J. Biol. Sci.* 7: 902-904.
- Chatterjee J., Chatterjee C. (2000)** Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environ. Pollut.* 109: 69-74.
- Chaudhry T.M., Hayes W.J., Khan A.G., Khoo C.S. (1998)** Phytoremediation – Focusing on accumulator plants that remediate metal-contaminated soils. *Austral.J. of Ecotoxicol.* 4: 37-51.
- Chen S., Li J., Fritz E., Wang S., Hüttermann A. (2002)** Sodium and chloride distribution in roots and transport in three poplar genotypes under increasing NaCl stress. *Forest Ecol. Manag.* 168: 217-230.
- Chiffolleau J. F., Auger D., Chartier E., Michel P., Truquet I., Ficht A., Gonzalez J.L., Romana L.A. (2001)** "Spatiotemporal changes in Cadmium contamination in the Seine estuary (France)." *Estuaries* 24(6B): 1029-1040.
- Choi Y.E., Harada E., Wada M., Tsuboi H., Morita Y., Kusano T., Sano H. (2001)** Detoxification of Cadmium into bacco plants: Formation and active secretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes. *Planta.* 213: 45–50.
- Cho U, Seo N (2004) Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Sci* 168:113–120
- Cho U.H.,Seo N.H. (2005)** Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Sci* 168:113-120.
- Clemens S, Palmgren MG, Krämer U (2002)** A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci* 7:309-315.
- Clemens S., (2006)** Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants, *Biochimie*, 88: 1707-1719.
- Cosio C., Martinoia E., Keller C. (2004)** Hyperaccumulation of cadmium and zinc in *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri* at the leaf cellular level. *Plant Physiol* 134: 716–725.
- Cosio C., Vollenweider P., Keller C. (2005)** Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.). I. Macrolocalization and phytotoxic effects of cadmium. *Environ. Exp. Bot.* 58: 64-74.

- Costa G., Spitz E. (1997)** Influence of cadmium on soluble carbohydrate, free amino acids, protein content of *in vitro* cultured *Lupinus albus*. *Plant Sci.* 128: 131-140.
- Coullery P. (1997)** Comportement de métaux lourds en agrosystèmes tempérés à faible taux de pollution. Thèse de Doctorat. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Lausanne.
- Cutler J.M., Rains D.W. (1974)** Characterization of cadmium uptake by plant tissue. *Plant Physiol* 54: 67-71.
- Cseh E. (2002)** Metal permeability, transport and efflux in plants. *In: Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants.* Prasad M.N.V. et Strzalka K. (eds). pp 1-36.
- Dahmani-Müller H., Van Oort F., Gelie B., Balabane M. (2000)** Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environ Pollut* 109: 1-8.
- DalCorso G., Farinati S., Maistri S., Furini A. (2008)** How plants cope with cadmium: staking all on metabolism and gene expression. *J Integr Plant Biol* 50: 1268-1280.
- DalCorso G., Manara A., Furini A. (2013)** An overview of heavy metal challenge in plants: from roots to shoots, *Metallomics*, 5: 1117-1132.
- Dat J, Vandenameele S, Vranova E, Van Montagu M, Inze D, Van Breusegem F (2000)** Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci* 57:779-795
- Das P., Samantaray S., Rout G.R. (1997)** Studies on cadmium toxicity in plants: A review. *Environ. Pollut.* 98: 29-36.
- Debez A., Saadaoui D., Ramani B., Ouerghi Z., Koyro H., Huchzermeyer B., Abdelly C. (2006)** Leaf H<sup>+</sup>-ATPase activity and photosynthetic capacity of *Cakile maritima* under increasing salinity. *Environ. Exp. Bot.* 57: 285-295.
- De La Rosa G., Peralta-Videa J.R., Montes M., Parsons J.G., Cano-Aguilera I., Gardea-Torresdey J.L. (2004)** Cadmium uptake and translocation in tumbleweed (*Salsola kali*), a potential Cd-hyperaccumulator desert plant species: ICP/OES and XAS studies. *Chemosphere* 55: 1159-1168.

**Deneux-Mustin S., Roussel-Debet S., Mustin C., Henner P., Munier-Lamy C., Colle C., Berthelin J., Garnier-Laplace J., Leyval C. (2003)** Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces: influence des micro-organismes du sol. Technétium In: Tec&Doc. Lavoisier, Paris, 233-240.

**Dixit V., Pandey V. et Shyam R. (2001)** Differential oxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). J. Exp. Bot., 52: 1101-1109.

**Djebali W., Chaïbi W., Ghorbel M.H. (2002)** Croissance, activité peroxydasique et modifications structurales et ultrastructurales induites par le cadmium dans la racine de tomate (*Lycopersicon esculentum*), Can.J. Bot. 80: 942–953.

**Djebali W., Zarrouk M., Brouquisse R., El Kahoui S., Limam F., Ghorbel M.H., Chaïbi W. (2005)** Ultrastructure and lipid alterations induced by cadmium in tomato (*Lycopersicon esculentum*) chloroplast membranes. Plant Biol (Stuttg) 7: 358-368.

**Djebali W, Gallusci P, Polge C, Boulila L, Galtier N, Raymond P, Chaïbi W, Brouquisse R (2008)** Modifications in endopeptidase and 20S proteasome expression and activities in cadmium-treated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. Planta 227:625–639

**Doustaly F., Combes F., Fievet J.B., Berthet S., Hugouvieux V., Bastien O., Aranjuelo I., Leonhardt N., Rivasseau C., Carriere M., Vavasseur A., Renou J.-P., Vandenbrouck Y., Bourguignon J. (2014)** Uranium perturbs signaling and iron uptake response in *Arabidopsis thaliana* roots, Metallomics, 6: 809-821.

**Dubey R.S., Singh A.K. (1999)** Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolising enzymes in rice plants. *Biol. Plant.* 42(2): 233-239.

**Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956)** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Ann. Chem.* 28: 350-356.

**Dushenkov V., Kumar P.B.A.N., Motto H., Raskin I. (1995)** Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environ. Sci. Technol.* 29: 1239-1245.

**Ebbs S., Uchil S. (2008)** Cadmium and zinc induced chlorosis in Indian mustard [*Brassica juncea*(L.) Czern] involves preferential loss of chlorophyll b. *Photosynthetica* 46: 49-55.

- Ekmekci Y., Tanyolac D., Ayhana B. (2008)** Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. *J Plant Physiol* 165: 600–611.
- Elmayan T., Tepfer M. (1994)** Synthesis of a bifunctional metallothionein/beta-glucuronidase fusion protein in transgenic tobacco plants as a means of reducing leaf cadmium levels. *Plant J* 6: 433-440.
- Elmsley J. (2001)** Nature's Building Blocks. A-Z guide to the elements. Oxford University Press, Oxford, UK.
- F.A.O. (2005)** Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils. Rome, Italy: FAO Land and plant nutrition management service. (<http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>).
- Fediuc E., Lips S.H., Erdei L. (2005)** O-acetylserine (thiol) lyase activity in Phragmites and Typha plants under cadmium and NaCl stress conditions and the involvement of ABA in the stress response. *J. Plant Physiol.* 162:865-872
- Filek M., Keskinen R., Hartikainen H., Szarejko I., Janiak A., Miszalski Z., Golda A. (2008)** The protective role of selenium in rape seedlings subjected to cadmium stress. *J Plant Physiol* 165:833–844
- Filipic M., Hei T.K. (2004)** Mutagenicity of cadmium in mammalian cells: implication of oxidative damage. *Mutat Res.* 546: 81-91.
- Fodor F. (2002)** Physiological responses of vascular plants to heavy metals. In: *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*, Prasad M.N.V. et Strzalka K. eds, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 149-177.
- Francllet A., Le Houérou N.H. (1971)** Les Atriplex en Tunisie et en Afrique du Nord. Doc. Tech n° 7, F.A.O.Rome, 249p.
- Gallego S.M., Benavide M.P., Tomaro M.L. (1996)** Effects of heavy metal ion excess on sunflower leaves: Evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Sci.* 121: 151-159.
- Ghnaya T., Nouairi I., Slama I., Messedi D., Grignon C., Abdelly C., Ghorbel M.H. (2005)** Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*, *Journal of Plant Physiology*, 162: 1133-1140.

- Ghnaya T., Slama I., Messedi D., Grignon C., Ghorbel M.H., Abdelly C. (2007)** Cd-induced growth reduction in the halophyte *Sesuviumportulacastrum* is significantly improved by NaCl. *J Plant Res* 120: 309-316.
- Ghosh M., Singh S.P. (2005)** A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 3 : 1-18.
- Gerhardt K.E., Greenberg B.M., Glick B.R. (2006)** The role of ACC deaminase in facilitating the Phytoremediation of organics, metals and salt. *Curr.Microbiol.* 2: 61–73.
- Gill S.S., Khan N.A.,Tuteja N. (2011)** Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulphur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum* L.). *J. Plant Sci.* doi: 10.1016.
- Glenn E.P., Brown J.J., Blumwald E. (1999)** Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Crit Rev Plant Sci.* 18: 227–255.
- Gong J.M., Lee D.A., Schroeder J.I. (2003)** Long-distance root-to-shoot transport of phytochelatins and cadmium in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100: 10118-10123.
- Goyer R.A., Liu J., Waalkes M.P. (2004)** Cadmium and cancer of prostate and testis. *Biomaterials* 17: 555-558.
- Grant C.A., Bailey L.D., Selles F., Uckley W.T. (1995)** Cadmium accumulation in crops, Canadian Network of Toxicology Centres National Workshop on Cadmium Transport in to Plants, WorkShop Proceedings, Ottawa, pp.55–71.
- Gratao P.L., Polle A., Lea P.J., Azevedo R.A. (2005)** Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. *Funct. Plant Biol.* 32:481-494.
- Groppa M.D., Tomaro M.L., Benavides M.P. (2001)** Polyamines as protectors against cadmium or copper-induced oxidative damage in sunflower leaf discs. *Plant. Sci.* 161 : 481-488.
- Guo T.R., Zhang G.P., Zhou M.X., Wu F.B., Chen J.X. (2007)** Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. *Pedosphere* 17: 505-512.
- Guerinot M.L (2000)** The ZIP family of metal transporters. *Biochim. Biophys. Acta* 1465:190-198.

- Haag-Kerwer A., Schäfer H.J., Heiss S., Walter C., Rausch T., (1999)** Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 50: 1827-1835.
- Hagemeyer J., Waisel Y. (1988)** Excretion of ions (Cd<sup>2+</sup>, Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, and Cl<sup>-</sup>) by *Tamarix aphylla*, *Physiologia Plantarum*, 73: 541-546.
- Haghir F. (1974)** Plant uptake of cadmium as influenced by cation exchange capacity, organic matter, zinc and soil temperature. *J. Env. Qual.* 3: 180-183.
- Hall J.L. (2002)** Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.* 366: 1-11.
- Harborne J.B. (1984)** *Phytochemical methods—a guide to modern techniques of plant analysis*, 2nd Edition, Chapman & Hall, London.
- Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J. (1998)** Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ.* 21: 535-553.
- Hart J.J., Norvell W.A., Welch R.M., Sullivan L.A., Kochian L.V. (1998a)** Characterization of zinc uptake, binding, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant Physiol* 118: 219-226.
- Hart J.J., Welch R.M., Norvell W.A., Sullivan L.A., Kochian L.V. (1998b)** Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant Physiol* 116: 1413-1420.
- Hasenstein K.H., Evans M.L., Stinemetz C.L., Moore R., Fondren W.M., Koon E.C., Higby M.A., Smucker A.J. (1988)** Comparative effectiveness of metal ions in inducing curvature of primary roots of *Zea mays*. *Plant Physiol* 86:885-889.
- Hasenstein K.H., Evans M.L., Stinemetz C.L., Moore R., Fondren W.M., Koon E.C.,**
- Henry J.R. (2000)** In *An Overview of phytoremediation of lead and mercury*. NNEMS Report, Washington, D.C.; pp. 3-9.
- He T., Cramer G.R. (1996)** Abscisic acid concentrations are correlated with leaf area reductions in two salt-stressed rapid-cycling *Brassica* species. *Plant Soil* 179: 25–33.
- Henson M.C., Chedrese P.J. (2004)** Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Exp Biol Med* (Maywood) 229: 383-392.

- Herbette S., Taconnat L., Hugouvieux V., Piette L., Magniette M.L.M., Cuine S., Auroy P., Richaud P., Forestier C., Bourguignon J., Renou J.P., Vavasseur A., Leonhardt N. (2006)** Genome-wide transcriptome profiling of the early cadmium response of Arabidopsis roots and shoots, *Biochimie*, 88: 1751-1765.
- Herrero J. (1992)** Dégradation du sol, et salinité associées à l'irrigation, corrections apportées en Aragon In : Foesser C. et J. Robert (Eds). Concilier l'agriculture et l'environnement, Syros-Alternatives.Paris, PP : 127-138.
- He Z.L., Yang X.E., Stoffella P.J. (2005)** Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J Trace Elem Med Biol* 19: 125-140.
- Higby M.A., Smucker A.J. (1988)** Comparative effectiveness of metal ions in inducing curvature of primary roots of *Zea mays*. *Plant Physiol* 86: 885-889.
- Hirschi KD, Korenkov VD, Wilganowski NL, Wagner GJ (2000)** Expression of arabidopsis *CAX2* in tobacco. Altered metal accumulation and increased manganese tolerance. *Plant Physiol* 124: 125-133
- Hsu Y.T., Kao C.H. (2007)** Cadmium-induced oxidative damage in rice leaves is reduced by polyamines. *Plant Soil* 291 : 27-37.
- Inouhe M., Ninomiya S., Tohyama H., Joho M., Murayama T. (1994)** Different characteristics of roots in the cadmium-tolerance and Cd-binding complex formation between mono- and dicotyledonous plants. *J. Plant Res.* 107: 201-207.
- Il'yasova D., Schwartz G.G. (2005)** Cadmium and renal cancer. *ToxicolApplPharmacol* 207: 179-186.
- Janicka-Russak M., Klobus G. (2007)** Modification of plasma membrane and vacuolar H<sup>+</sup>-ATPases in response to NaCl and ABA. *J. Plant Physiol.* 164: 295-302.
- Jha A.B., Dubey R.S. (2004)** Carbohydrate metabolism in growing rice seedlings under arsenic toxicity. *Plant Physiol.* 123: 1029-1036.
- Johnson M.D., Kenney N., Stoica A., Hilakivi-Clarke L., Singh B., Chepko G, Clarke R., Sholler P.F., Lirio A.A., Foss C., Reiter R., Trock B., Paik S., Martin M.B. (2003)** Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nat Med* 9: 1081-1084.

- Jordan F.L., Robin-Abbott M., Maier R.M., Glenn E.P. (2002)** A comparison of chelator-facilitated metal uptake by a halophyte and a glycophyte. *Environ Toxicol Chem.* 21:2698–2704.
- Joseph P., Muchnok T.K., Klishis M.L., Roberts J.R., Antonini J.M., Whong W.Z., Ong T. (2001)** Cadmium-induced cell transformation and tumorigenesis are associated with transcriptional activation of c-fos, c-jun, and c-myc proto-oncogenes: role of cellular calcium and reactive oxygen species. *Toxicol. Sci.* 61: 295-303.
- Juste C., Chassin P., Gomez A., Linères M., Mocquot B. (1995)** Les micropolluants métalliques dans les boues résiduaires des stations d'épuration urbaines. ADEME (ed) Paris, 209 p.
- Kabata-Pendias A., Pendias H. (1992)** Trace elements in soils and plants. Boca Raton: CRC Press 365p.
- Kabata-Pendias A., Pendias H. (2001)** Trace elements in soils and plants. 3<sup>rd</sup> CRC Press, Boca Raton, London, New-York, Washington D.C.
- Kadukova J., Papadontonakis N., Naxakis G., Kalogerakis N.(2004)** Lead accumulation by the salt-tolerant plant *Atriplexhalimus*. In: Moutzouris C, Christodoulatos C, Dermatas D, Koutsospyros A, Skanavis C, Stamou A (eds) Proceedings of the International Conference on Protection and Restoration of the Environment VII, June 28–July1, Mykonos, Greece.
- Kadukova J., Kalogerakis N. (2007)** Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis* Bunge, *European Journal of Soil Biology*, 43: 216-223.
- Kadukova J., Manousaki E., Kalogerakis N. (2008)** Pb and cd accumulation and phyto-excretion by salt cedar (*Tamarix smyrnensis* bunge), *International Journal of Phytoremediation*, 10: 31-46.
- Karimi G., Ghorbanli M., Heidari H., Khavari Nejad R.A., Assareh M.H. (2005)** The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia prostrata*. *Biol. Plant.* 49(2): 301-304.
- Kastori R., Petrovic M., Petrovic N. (1992)** Effect of excess lead, cadmium, copper and zinc on water relations in sunflower. *J. Plant Nutr.*, 15 : 2427-2439.

- Keiffer C.H., Ungar I.A. (2002)** Germination and establishment of halophytes on brine-affected soils. *J Appl Ecol.* 39:402–415.
- Keren R. (2000)** Salinity. In: Sumner M.E. (Ed.) *Handbook of Soil Science*. CRC Press, NY, USA, pp: 3-25.
- Khan N.A., Ungar I.A., Showalter A.M. (2000)** Effects of salinity on growth, water relations and ions accumulation of the subtropical perennial halophyte, *Atriplexgriffithii* var. stockii. *Ann. Bot.* 85: 225-232.
- Khan N.A., Duke N.C. (2001)** Halophytes-A resource for the future. *Wetlands Ecolo.Manag.* 6: 455-456.
- Kim Y.Y., Yang Y.Y., Lee Y. (2002)** Pb and Cd uptake in rice roots. *PhysiolPlant* 116: 368-372.
- Kinet J.M., Benrebiha F.Z., Bouzid S., Lahacars S., Dutuit P. (1998)** le réseau Atriplex. Atelier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en région arides et semi-arides. *Rev.cahiers d’agricultures.VOL.7 (6)* pp: 505-509.
- Kobayashi E., Okubo Y., Suwazono Y., Kido T. and Nogawa K. (2002)** Dose-response relationship between total cadmium intake calculated from the cadmium concentration in rice collected from each household of farmers and renal dysfunction in inhabitants of the Jinzu River Basin, Japan. *J. Appl. Toxicol.* 22: 431-436.
- Koca H., Bor M., Özdemir F., Türkan I. (2007)**The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environ. Exp. Bot.* 60: 344-351.
- Koller E. (2004)** Traitement des pollutions industrielles, Ed. Dunod, Paris, pp 424.
- Kotzer E. (2005)** Artificial kidneys for the soil - solving the problem of salinization of the soil and underground water. *Desalination* 185:71-77.
- Kovacik J., Tomko J., Backor M. and Repečak M. (2006)**Matricariachamomilla is not a hyperaccumulator, but tolerant to cadmium stress. *Plant Growth Regul.* 50:239–247.
- Kraemer U. (2010)** Metal Hyperaccumulation in Plants, *Annual Review of Plant Biology*, Vol 61, 61: 517-534.

- Krämer U., Chardonens A.N. (2001)** The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace element. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55: 661-672.
- Kuboi T., Noguchi A., Yazaki J. (1986)** Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants. *Plant Soil* 92:405-415.
- Kuldeep S., Brar J.S. (2002)** Genotypic differences in effects of cadmium on yield and nutrient composition in *Brassica* plants. Symposium No 42, paper No 218, presentation: Poster, 17th WCSS, 14-21.
- Küpper H., Lombi E., Zhao S.W., McGrath S.P. (2000)** Cellular compartmentation for cadmium and zinc in relation to others element in the hyperaccumulators *Arabidopsis halleri*. *Planta.* 212:75–84.
- Lagriffoul A., Mocquot B., Mench M. et Vangronsveld J. (1998)** Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). *Plant Soil* 200: 241-250.
- Larbi A., Morales F., Abadía A., Gogorcena R., Lucena J., Abadía J. (2002)** Effects of Cd and Pb in sugar beet plants grown in nutrient solution: induced Fe deficiency and growth inhibition. *Funct Plant Biol.* 29: 1453-1464.
- Lefèvre I., Marchal G., Meerts P., Corréal E., Lutts S. (2009)** Chloride salinity reduces cadmium accumulation by the Mediterranean halophyte species *Atriplexhalimus* L. *Environ Exp Bot.* 65:142–152.
- Le Houérou H.N. (1993)** Salt tolerant plant of the arid regions of the Mediterranean isoclimatic zone. In: Lieht H., Almasoom A. (Eds) *Towards the rational use of highsalinity tolerant plant.* Kluwer academic publishers, pp: 403-422.
- Le Houérou H.N. (2000)** Utilization of fodder trees and shrubs in the arid and semi-arid zones of west Asia and north Africa. *Arid Soil Res. Rehab.* 14: 101-135.
- Leita L., De Nobili M., Cesco S., Mondini C. (1996)** Analysis of intercellular cadmium forms in roots and leaves of bush bean. *J. Plant Nutr.* 19: 527-533.
- Le Lay P., Isaure M.P., Sarry J.E., Kuhn L., Fayard B., Le Bail J.L., Bastien O., Garin J., Roby C., Bourguignon J. (2006)** Metabolomic, proteomic and biophysical analyses of *Arabidopsis thaliana* cells exposed to a caesium stress. Influence of potassium supply, *Biochimie*, 88: 1533-1547.

**Lestan D., (2006)** Enhanced heavy metal phytoextraction. In: Phytoremediation Rhizoremediation, Mackova M., Dowling D. et Macek T. (eds.), pp. 115-132, Springer, The Netherlands.

**Levitt, J. (1980)** Responses of plants to environmental stresses. Volume II: Water, radiation, salt, and other stresses. Academic Press, New York.

**Lima, A.I.G., Pereira, S.I.A., Figueira, E.M.P., Caldeira, G.C.N., Caldeira, H.D.Q. (2006)** Cadmium detoxification in roots of *Pisumsativum* seedlings: relationship between toxicity levels, thiol pool alterations and growth. Environ. Exp.Bot.55:149–162.

**Limiting X., Zhan J.K. (2003)** Regulation of Abscisic acid biosynthesis. *Plant Physiol.* 133: 29-36.

**Lindberg S., Greger M. (2002)** Plant genotypic differences under metal deficient and enriched conditions. In : Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants, Prasad M.N.V. et Strzalka K. eds, Kluwer Academic Publishers, Netherlands. pp 357-393.

**Liu C.P., Shen Z.G., Li X.D. (2007)** Accumulation and detoxification of cadmium in *Brassica pekinensis* and *B. chinensis*. Biol. Plant 51:116–120.

**Lopez-Chuken U.J., Young S.D. (2005)** Plant screening of halophyte species for cadmium phytoremediation. Z Naturforsch C. 60: 236-243.

**Lozano-Rodriguez E, Hernandez LE, Bonay P, CarpenaRuiz RO (1997)** Distribution of cadmium in shoots and root tissues of maize and pea plants: Physiological disturbances. J Exp Bot 48:123-128.

**Lu C.M., Qiu N.W., Lu Q.T., Wang B.S., Kuang T.Y. (2002)** Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photoinhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte *Suaeda salsa* grown outdoors? *Plant Sci.* 163: 1063-1068.

**Lutts S., Lefèvre I., Delpérée C., Kivits S., Dechamps C., Robledo A., Correal E. (2004)** Heavy metal accumulation by the halophyte species Mediterranean saltbush. J Environ Qual. 33:1271–1279.

**MacRobbie E.A., Kurup S. (2007)** Signalling mechanisms in the regulation of vacuolar ion release in guard cells. New Phytol. 175: 630-640.

- Malan P.J., Rethman N.F.G. (2002)** The use of stem cuttings to propagate *Atriplexnummularia*L. (Oldman saltbush) vegetatively. South African Journal of Agricultural Development. 21: 30-57.
- Malan P.J. (2000)** Selection and Propagation of Elite *Atriplex* material. M.Sc. (Agriculture) Pasture Science Thesis. University of Pretoria. Pretoria, South Africa.
- Malcolm C.V., Lindley V.A., O'Leary J.W., Runciman H.V., Barrett-Lennard E.G. (2003)** Halophyte and glycophyte salt tolerance at germination and the establishment of halophyte shrubs in saline environments, Plant and Soil, 253: 171-185.
- Manousaki E., Kadukova J., Papadantonakis N., Kalogerakis N. (2008)** Phytoextraction and phytoexcretion of Cd by *Tamarixmyrnenensis* growing on contaminated non saline and saline soils. Environ Res. 106: 326–332.
- Manousaki E., Kokkali F., Kalogerakis N. (2009)** Influence of salinity on lead and cadmium accumulation by the salt cedar (*Tamarixmyrnenensis* Bunge). J Chem Technol Biotechnol. 84:877–883.
- Manousaki E., Kalogerakis N. (2009)** Phytoextraction of Pb and Cd by the Mediterranean saltbush (*Atriplexhalimus* L.): Metal uptake in relation to salinity. Environ Sci. Pollut. Res. 16:844–854.
- Manousaki E., Kalogerakis N., (2011)** HALOPHYTES-AN EMERGING TREND IN PHYTOREMEDIATION, International Journal of Phytoremediation, 13: 959-969.
- Marcum K.B. (2006)** Use of saline and non-potable water in the turfgrass industry: Constraints and developments. Agri.WaterManag. 80: 132-146.
- Mariem W., Kilani B.R., Benet G., Abdelbasset L., Stanley L., Charlotte P., Chedly A., Tahar G. (2014)** How does NaCl improve tolerance to cadmium in the halophyte *Sesuvium portulacastrum*?, Chemosphere, 117: 243-250.
- Martínez J-P., Ledent J.F., Bajji M., Kinet J-M., Lutts S. (2003)** Effect of water stress on growth, Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> accumulation and water use efficiency in relation to osmotic adjustment in two populations of *Atriplexhalimus*L. Plant Growth Regul. 41: 63-73.

- Martin H.W., Young T.R., Kaplan D.I., Simon L., Adriano D.C. (1996)** Evaluation of three herbaceous index plant species for bioavailability of soil cadmium, chromium, nickel and vanadium. *Plant and Soil* 182: 199-207.
- Masters D.G., Benes S.E., Norman H.C. (2007)** Biosaline agriculture for forage and livestock production. *Agri. Ecosys. Environ.* 119: 234–248.
- McBride M.B. (1980)** Chemisorption of Cd on calcite surfaces. *Soil Sci Soc Am J* 44: 26-33.
- McBride M.B. (1995)** Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge - Are usepa regulations protective, *Journal of Environmental Quality*, 24: 5-18.
- McBride M.B. (2004)** Molybdenum, sulfur, and other trace elements in farm soils and forages after sewage sludge application. *Commun Soil Sci Plant Anal* 35: 517.
- McGrath S.P., Zhao F.J. (2003)** Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Curr. Opin. Biotechnol.* 14: 277-282.
- McLaughlin M.J., Singh B.R. (1999)** Cadmium in soils and plants, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp 273.
- Mensch M., Baize D. (2004)** Contamination des sols et de nos aliments d'origine végétale par les éléments en trace, mesures pour réduire l'exposition. *Courrier de l'Environnement de l'INRA* 52: 31-54.
- Metwally A., Finkemeier I., Georgi M., Dietz K.J. (2003)** Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiol* 132:272-281.
- Metwally A., Safronova V.I., Belimov A.A., Dietz K.J. (2005)** Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. *J Exp Bot* 56:167–178.
- Milone M.T., Sgherri C., Clijsters H., Navari-Izzo F. (2003)** Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium. *Environ Exp Bot* 50: 265-276.
- Mishra S., Srivastava S., Tripathia R.D., Govindarajan R., Kuriakose S.V., Prasad M.N.V. (2006)** Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiol. Biochem.* 44, 25–37.
- Mobin M., Khan N.A. (2007)** Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J. Plant Physiol.* 164: 601-610.

**Moller I.M. (2001)** Plant mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Ann Rev Plant Physiol Plant MolBiol* 52:561–591.

**Montarges-Pelletier E., Chardot V., Echevarria G., Michot L.J., Bauer A., Morel J.-L. (2008)** Identification of nickel chelators in three hyperaccumulating plants: An X-ray spectroscopic study, *Phytochemistry*, 69: 1695-1709.

**Mortvedt J.J., Beaton J.D. (1995)** Heavy metal and radionuclide contaminants in phosphate fertilizers. In: Tiessen H, editor. *Phosphorus in the global environment: transfer, cycles and management*. New York: Wiley p 93-106.

**Moulis, Bourguignon J., Catty P. (2014)** Cadmium, the Royal Society of Chemistry.

**Munns R. (2005)** Genes and salt tolerance: bringing them together. *NewPhytol.* 167: 645 -663.

**Mysliwa-Kurdziel B., Strzalka K. (2002)** Influence of metals on biosynthesis of photosynthetic pigments. In : *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*, Prasad M.N.V. et Strzalka K. (eds), Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 201-227.

**Nedjimi B., Daoud Y. (2009)** Cadmium accumulation in *Atriplexhalimus* subsp. *Schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora.* 204: 316–324.

**Noctor G., Foyer C. (1998)** Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 249-279.

**Noriega G.O., Balestrasse K.B., Batlle A., Tomaro M.L. (2007)** Cadmium-induced oxidative stress in soybean plants also by the accumulation of  $\delta$ -aminolevulinic acid. *Biometals* 20:841–851.

**Nouari I., Ghnaya T., Messeddi D., Zarrouk M., Abdely C., Ghorbel M. (2002)** Etude de la croissance et de la capacité d'accumulation des métaux lourds chez deux halophytes: *Mesembryanthemum crystallinum* et *Sesuvium portulacastrum*, XIIIe`mes J Biol l'Assoc Tunis Sci Biol, 112.

**Orcutt D.M., Nilsen E.T. (2000)** Phytotoxicity and soil pollution: heavy metals and xenobiotics. In: *The Physiology of plants under stress, soil and biotic factors*. NewYork, John Wiley and Sons, Inc. p.481–517.

- Osmond C.B., Bjorkmann O., Anderson D.J. (1980)** Physiological processes in plant ecology: towards a synthesis with *Atriplex*. Springer-Verlag, Berlin. 463 p..
- Ouariti O., Gouia H., M.H. Ghorbel M.H. (1997)** Responses of bean and tomato plants to cadmium: Growth, mineral nutrition, and nitrate reduction, *Plant. Physiol. Biochem.* 35: 347–354.
- Ovecka M., Takac T. (2014)** Managing heavy metal toxicity stress in plants: Biological and biotechnological tools, *Biotechnology Advances*, 32: 73-86.
- Owens S. (2001)** Salt of the earth. *European Molecular Biology Organization (EMBO) Reports.* 2:877–879.
- Padmaja K., Prasad D.D.K., Prasad A.R.K. (1990)** Inhibit of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate. *Photosynthetica* 24: 399-405.
- Pal M., Horvath E., Janda T., Paldi E., Szalai G. (2006)** Physiological changes and defence mechanisms induced by cadmium stress in maize. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 169: 239-246.
- Pal M., Szalai G., Horvath E., Janda T., Paldi E. (2002)** Effect of salicylic acid during heavy metal stress. *Acta Biol. Szeg.* 46: 119-120.
- Palmer T., Ainslie A. (2002)** South Africa, in: *Grassland and Pasture Crops: Country Pasture / Forage Resource Profiles.* (F.A.O. Online database, F.A.O. South Africa) Forestry and Agroforestry Organisation.  
[www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/counprof/southafrica/southafrica.htm](http://www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/counprof/southafrica/southafrica.htm)
- Parida A.K., Das A.B. (2005)** Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotox. Environ. Safety* 60: 324–349.
- Perfus-Barbeoch L., Leonhardt N., Vavasseur A., Forestier C. (2002)** Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. *Plant J.* 32: 539-548.
- Patel M.J., Patel J.N., Subramanian R.B. (2005)** Effect of cadmium on growth and the activity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging enzymes in *Colocassia esculentum*. *Plant and Soil* 273:183–188.
- Peer W., Baxter I., Richards E., Freeman J., Murphy A. (2006)** Phytoremediation and hyperaccumulator plants. In *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification*, 299-340.

- Pilon-Smits E. (2005)** Phytoremediation, in: Annual Review of Plant Biology, pp. 15-39.
- Pokorny B., Al Sayegh-Petkovsek S., Ribaric-Lasnik C., Vrtacnik J., Doganoc D.Z., Adamic M. (2004)** Fungi ingestion as an important factor influencing heavy metal intake in roe deer: evidence from faeces. *Sci. Total Environ.* 324: 223-234
- Poschenrieder C., Gunse B., Barcelo J. (1989)** Influence of cadmium on water relations, stomatal-resistance, and abscisic-acid content in expanding bean leaves. *Plant Physiol.* 90:1365–1371.
- Pouget M. (1980)** Les relations sol-Végétations dans les Steppes sud-Algéroises Travaux et document de L'O.R.S.T.O.M. N°116 p. 555. Paris.
- Prasad M.N.V., Freitas H., Fraenzle S., Wuenschmann S., Markert B., (2010)** Knowledge explosion in phytotechnologies for environmental solution. *Environmental Pollution* 158: 18-23.
- Quershi R.H., Barrett-Lennard E.G. (1998)** Saline Agriculture for Irrigated Land in Pakistan. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra, Australia.
- Ramos I., Esteban E., Lucena J.J., Garate A. (2002)** Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of Lactucasp Cd-Mninteraction. *Plant Sci* 162: 761-767.
- Raskin I., Kumar P.B.A.N., Dushenkov S., Salt D.E. (1994)** Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 5: 285-90.
- Ravindran K.C., Venkatesan K., Balakrishnan V., Chellappan K.P., Balasubramanian T. (2007)** Restoration of saline land by halophytes for Indian soils. *Soil BiolBiochem.* 39:2661–2664.
- Reeves R.D., Baker A.J.M. (2000)** Metal-accumulating plants. In: Phytoremediation of toxic metals-using plants to clean up the environment. Raskin I., Ensley, B.D. (Eds.), John Wiley and Sons, New York, pp. 193-229.
- Rengel, Z. (1999)** Heavy Metals as Essential Nutrients. In: Prasad, M.N.V. & Hagemayer, J. (Eds.). Heavy metal stress in plants: From molecules to ecosystems. Springer-Verlag, Berlin, pp. 231-251.

**Robert M., Juste C. (1998)** Stocks flux d'éléments traces dans les sols du territoire In Epanchage des boues d'épuration urbaines: aspects sanitaires environnementaux. Actes définitifs des journées techniques ADEME. 5 et 6 juin 1997 Paris, 320p.

**Romanowska E. (2002)** Gas exchange functions in heavy metal stressed plants. In: Strzalka K. eds, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp 257- 285.

**Romero-Puertas M.C., Rodriguez-Serrano M., Corpas F.J., Gomez M., Del Rio L.A., Sandalio L.M. (2004)** Cadmium induced subcellular accumulation of O<sup>2-</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in pealeaves. *Plant Cell Environ.* 27 : 1122-1134.

**Rossi G., Figliolia A., Socciarelli S., Pennelli B.(2002)** Capability of *Brassica napus* to accumulate cadmium, zinc and copper from soil, *Acta Biotechnologica*, 22: 133-140.

**Salt D.E., Prince R.C., Pickering I.J., Raskin I. (1995)** Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiol.*, 109 : 1427-1433.

**Salt D.E., Smith R.D., Raskin I. (1998)** Phytoremediation, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 643-668.

**Salt D.E., Krämer U. (2000)** Mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. In: Raskin I., Ensley B.D. (Eds.), *Phytoremediation of Toxic Metals: Using plants to Clean up the Environment*. John Wiley, New York, pp. 231-246.

Salin ML (1988) Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplasts. *Physiol Plant* 72:681–689.

**Sammot M. (2007)** Spéciation du cadmium, du plomb et du zinc dans les poussières d'émissions atmosphériques d'origine sidérurgique – Approche de l'impact toxicologique des poussières. Thèse : Ecole Doctorale Sciences et Techniques : Géosciences de l'Environnement, Université d'Aix-Marseille III.

**Sandalio L.M., Dalurzo H.C., Gomez M., Romero-Puertas M.C., Del Rio L.A. (2001)** Cadmium induces changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *J. Exp. Bot.* 52: 2115-2126.

**Sanita Di Toppi L., Gabbrielli R. (1999)** Response to cadmium in higher plants. *Environ Exp. Bot.* 41: 105-130.

**Sarret G., Harada E., Choi Y-E., Isaure M-P., Geoffroy N., Fakra S., Marcus M.A., Birschwilks M., Clemens S., Manceau A. (2006)** Trichomes of tobacco

excrete zinc as zinc-substituted calcium carbonate and other zinc-containing compounds. *Plant Physiol.* 141:1021–1034.

**Sarry J.E., Kuhn L., Ducruix C., Lafaye A., Junot C., Hugouvieux V., Jourdain A., Bastien O., Fievet J.B., Vailhen D., Amekraz B., Moulin C., Ezan E., Garin J., Bourguignon J. (2006)** The early responses of *Arabidopsis thaliana* cells to cadmium exposure explored by protein and metabolite profiling analyses, *Proteomics*, 6: 2180-2198.

**Sarwar N., Malhi S.S., Zia M.H., Naeem A., Bibi S., Farid G. (2010)** Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *J Sci Food Agric* 90: 925-937.

**Sauvé S., Norvell W.A., McBride M., Hendershot W. (2000)** Speciation and complexation of cadmium in extracted soil solutions. *Environ. Sci. Technol.* 34: 291-296.

**Sbartai H., Rouabhi R., Sbartai I., Berrebbah H., Djebbar M.R. (2008)** Induction of anti-oxidative enzymes by cadmium stress in tomato (*Lycopersicon esculentum*), *African Journal of plant science*, 2: 72-76.

**Sbartai H., Djebbar M.R., Sbartai I., Berrabbah H. (2012)** Bioaccumulation of cadmium and zinc in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.), *Comptes Rendus Biologies*, 335: 585-593.

**Schat H., Sharma S.S., Vooijs R. (1997)** Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a non-tolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiol Plantarum*.101:477–482.

**Schwartz C., Echevarria G., Morel J.L. (2003)** Phytoextraction of cadmium with *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil* 249: 27-35.

**Sela M, Garty J, Tel-Or E, (1989)** The accumulation and the effect of heavy metals on the water fern *Azolla filiculoides*. *New Phytol* 112: 7-12.

**Shah K., Kumar R.G., Verma S., Dubey R.S. (2001)** Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci.* 161:1135–1144.

- Sharma S.S., Dietz K.J. (2006)** The significance of amino acids and amino-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J. Exp. Bot.* 57: 711-726.
- Sharma S.S., Kumar V. (2002)** Responses of wild type and abscisic acid mutants of *Arabidopsis thaliana* to cadmium. *J Plant Physiol* 159: 1323-1327.
- Sharmila P., PardhaSaradhi P. (2002)** Proline accumulation in heavy metal stressed plants: An adaptative strategy. In : *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. Prasad M.N.V. et Strzalka K. (Eds), pp. 179-199.
- Shevyakova N.I., Netronina I.A., Aronova E.E., Kuznetsov V.I.V. (2003)** Compartmentation of cadmium and iron in Mesembryanthemum crystallinum plants during the adaptation to cadmium stress. *Russ J Plant Physiol.* 50: 678–685.
- Singh S., Khan N.A., Nazar R. and Anjum N.A. (2008)** Photosynthetic traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper) under cadmium stress. *Am J. Plant Physiol.* 3:25–32.
- Song J., Feng G., Tian C., Zhang F. (2006)** Osmotic adjustment traits of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* in field or controlled conditions. *Plant Sci.* 170: 113-119.
- Soon Y.K. (1998)** Determination of cadmium, chromium, cobalt, lead and nickel in plant tissue, CRC Press, London.
- Sposito G. (1989)** The chemistry of soils. Oxford Univ Press, 277 p.
- Srivastava S., Tripathi R.D., Dwivedi U.N. (2004)** Synthesis of phytochelatins and modulation of antioxidants in response to cadmium stress in *Cuscuta reflexa* – an angiospermic parasite. *J. Plant Physiol.* 161: 665-675.
- Stobart A.K., Griffiths W.T., Ameen-Bukhari I., Sherwood R.P. (1985)** The effect of Cd<sup>2+</sup> on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiol. Plant.* 63: 293-298.
- Storey R., Thomson W.W. (1994)** An X-ray-microanalysis study of the salt-glands and intracellular calcium crystals of *Tamarix*, *Annals of Botany*, 73: 307-313.
- Szöllösi R, Varga IS, Erdei L, Mihalik E (2009)** Cadmium-induced oxidative stress and antioxidative mechanisms in germinating Indian mustard (*Brassica juncea* L.) seeds. *Ecotoxicol Environ Saf* 72:1337-1342

- Thomas J.C., Malick F.K., Endreszl C., Davies E.C., Murray K.S.. (1998)** Distinct responses to copper stress in the halophyte *Mesembryanthemumcrystallinum*. *PhysiolPlantarum*. 102: 360–368.
- Thomine S., Wang R., Ward J., Crawford N., Schroeder J. (2000)** Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in *Arabidopsis* with homology to Nramp genes. *Proc. Natl. Acad. Sc. USA* 97: 4991-4996.
- Thomson W.W., Berry W.L., Liu L.L. (1969)** Localization and secretion of salt by the salt glands of *Tamarixaphylla*. *ProcNatlAcadSci USA*. 63: 310–317.
- Touchette B.W. (2006)** Salt tolerance in a *Juncusroemerianus*brackish marsh: Spatial variations in plant water relations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 337: 1-12.
- Uetani M., Kobayashi E., Suwazono Y., Honda R., Nishijo M., Nakagawa H., Kido T.,Nogawa K. (2006)** Tissue cadmium (Cd) concentrations of people living in a Cd polluted area, Japan. *Biometals*, 19: 521-525.
- Vamerali T., Bandiera M., Mosca G. (2010)** Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review, *Environmental Chemistry Letters*, 8: 1-17.
- Van Assche F., Clijsters H. (1986)** Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentration of zinc: effect on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *J. Plant Physiol.* 125: 335-360.
- Van Assche F., Clysters H. (1990)** Effect of metals on enzyme activity in plants, *Plant. Cell Environ.* 13:195–206.
- Vangronsveld J., Herzig R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Vassilev A., Meers E., Nehnevajova E., Van der Lelie D., Mench M. (2009)** Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field, *Environmental Science and Pollution Research*, 16: 765-794.
- Vassilev A., Yordanov I., Tsonev T. (1997)** Effects of Cd<sup>2+</sup> on the physiological state and photosynthetic activity of young barley plants.*Photosynthetica* 34: 293-302.
- Vassilev A., Yordanov I. (1997)** Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium-treated plants: a review. *Bulg J Plant Physiol.* 23: 114-133.
- Vatamaniuk OK, Mari S, Lu YP, Rea PA (2000)** Mechanism of heavy metal ionactivation of phytochelatin (PC) synthase:blocked thiols are sufficient for PC

synthasecatalyzedtranspeptidation of glutathione andrelated thiol peptides. J BiolChem 275:31451-31459.

**Verbruggen N., Hermans C., Schat H. (2009)** Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants, Current Opinion in Plant Biology, 12: 364-372.

**Verma S., Dubey R.S. (2003)** Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Sci. 164: 645–655.

**Villiers F., Ducruix C., Hugouvieux V., Jarno N., Ezan E., Garin J., Junot C., Bourguignon J. (2011)** Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches, Proteomics, 11: 1650-1663.

**Waalkes M.P. (2000)** Cadmium carcinogenesis in review. J. Inorg. Biochem. 79: 241-244.

**Wahla I.H., Kirkham M.B. (2008)** Heavy metal displacement in salt-water-irrigated soil during phytoremediation. Environmental Pollution, 155: 271-283.

**Wagner GJ (1993)** Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. Adv Agron 51: 173-212

**Wang R.Z. (2004)** Plant functional types and their ecological responses to salinization in saline grasslands, Northeastern China. *Photosynthetica*42 (4): 511-519.

**Watson M.C., Banuelos G.S., O’Leary J.W., Riley J.J. (1994)** Trace element composition of Atriplex grown with saline drainage water. Agri. Ecosys. Environ. 48:157-162.

**Wegglar-Beaton K., McLaughlin M.J., Graham R.D. (2000)** Salinity increasescadmium uptake by wheat and Swiss chardfrom soil amended with biosolids. Aust J SoilRes 38: 37-45.

**Wegglar K., McLaughlin M.J., Graham R.D. (2004)** Effect of chloride in soil solution on the plant availability of biosolid-borne cadmium. J Environ Qual 33: 496-504.

**Wenzel, W.W., Unterbrunner, R.,Sommer, P., Sacco P. (2003)** Chelate assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments. Plant and soil 249: 83-9.

- Wilkinson S., Davies W.J. (1997)** Xylem sap pH increase: a drought signal received at the apoplastic face of guard cell that involves the suppression of saturable abscisic acid uptake by epidermal symplast. *Plant Physiol.* 113: 559-573.
- Williams L.E., Pittman J.K., Hall J.L. (2000)** Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochimica Biophysica Acta* 1465: 104-126.
- Wojcik M., Vangronsveld J., D'Haen J., Tukiendorf A. (2005)** Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*. II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*. *Environ Exp Bot* 53: 163-171.
- Xiaomei L., Qitang W., Banks M.K., Ebbs S.D. (2005)** Phytoextraction of Zn and Cu from sewage sludge and impact on agronomic characteristics. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* 40: 823-838.
- Xu J., Yin H., Liu X., Li X. (2010)** Salt affects plant Cd-stress responses by modulating growth and Cd accumulation. *Planta* 231: 449-459.
- Yanai J., Zhao F.J., McGrath S.P. (2006)** Kosaki T., Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*, *Environmental Pollution*, 139: 167-175.
- Zacchini M., Rea E., Tullio M., Agazio M. (2003)** Increased antioxidative capacity in maize calli during and after oxidative stress induced by long lead treatment. *Plant Physiol. Biochem.* 41: 49-54.
- Zhang G., Fukami M. et Sekimoto H. (2000)** Genotypic differences in effects of cadmium on growth and nutrient compositions in wheat. *J. Plant. Nutr.* 23 : 1337-1350.
- Zhao F.J., Hamon R.E., Lombi E., McLaughlin M.J., McGrath S.P. (2002)** Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *J Exp Bot* 53:535–543.
- Zhou W.B., Qiu B.S. (2005)** Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii* Hance (Crassulaceae), *Plant Science*, 169: 737-745.
- Zhu J.K., Meinzer F.C. (1999)** Efficiency of C-4 photosynthesis in *Atriplex lentiformis* under salinity stress. *Aus. J. Plant Physiol.* 26: 79-86.

**Zhu Z., Wei G., Li J., Qian Q., Yu J. (2004)** Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Sci.* 167: 527–533.

**Zoghlami L.B., Djebali W., Chaibi W., Ghorbel M.H. (2006)** Physiological and structural modifications induced by cadmium-calcium interaction in tomato (*Lycopersicon esculentum*), *Comptes Rendus Biologies*, 329: 702-711.

**Zornoza P., Sanchez-Pardo B., Carpena R.O. (2010)** Interaction and accumulation of manganese and cadmium in the manganese accumulator *Lupinus albus*. *J. Plant Physiol.* 167: 1027-1032.

**Zorrig W., Rouached A., Shahzad Z., Abdelly C., Davidian J.C., Berthomieu P. (2010)** Identification of three relationships linking cadmium accumulation to cadmium tolerance and zinc and citrate accumulation in lettuce. *J. Plant Physiol* 167: 1239-1247.

## Annexes

**ANNEXE 2 : Photos de station d'expérimentation**



**A. Vu général de la serre**



**B. Plantes d'*Atriplex nummularia*, à près cinq semaines de traitement (fin de traitement)**



**C. Plantules d'*Atriplex nummularia* à la première semaine de traitement (début de traitement)**

**ANNEXE 1 : Tableaux d'analyse de la variance (ANOVA)**

- Variation de la biomasse sèche (g/plante) des parties aérienne et racinaire de plantes d'*Atriplex nummularia* L. cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 µM de CdCl<sub>2</sub>) en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions (± SD).

- partie aérienne

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	390,154	5	78,0308	4,81	0,0121
<b>Intra-groupes</b>	194,799	12	16,2332		
<b>Total (Corr.)</b>	584,953	17			

- partie racinaire

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	0,62764	5	0,125528	9,83	0,0006
<b>Intra-groupes</b>	0,153224	12	0,0127687		
<b>Total (Corr.)</b>	0,780864	17			

- Variation de l'indice de succulence (MF/MS) des parties aérienne et racinaire de plantes d'*Atriplex nummularia* L. cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20 µM de CdCl<sub>2</sub>), en présence de doses croissantes de NaCl (0,2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions (± SD).

- partie aérienne

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	48,0805	5	9,6161	8,02	0,0001
<b>Intra-groupes</b>	33,5635	28	1,1987		
<b>Total (Corr.)</b>	81,644	33			

- partie racinaire

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	64,1204	5	12,8241	17,23	0,0000
<b>Intra-groupes</b>	8,93207	12	0,744339		
<b>Total (Corr.)</b>	73,0525	17			

3. Variations des teneurs en chlorophylles a, b et totales (mg/g) dans les feuilles d'*Atriplex nummularia* cultivées sur un sol pollué ou non par du cadmium (20  $\mu\text{M}$  de  $\text{CdCl}_2$ ) en présence de concentrations croissantes de NaCl (0,2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions ( $\pm$  SD).

- chlorophylles a

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	0,7961	7	0,113729	2,32	0,0779
<b>Intra-groupes</b>	0,78592	16	0,04912		
<b>Total (Corr.)</b>	1,58202	23			

- chlorophylles b

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	0,00146606	7	0,000209437	2,26	0,0843
<b>Intra-groupes</b>	0,00148527	16	0,0000928293		
<b>Total (Corr.)</b>	0,00295133	23			

- chlorophylles totales

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	1,37321	7	0,196173	1,54	0,2253
<b>Intra-groupes</b>	2,04465	16	0,12779		
<b>Total (Corr.)</b>	3,41786	23			

4. Evolution des teneurs en sucres solubles totaux des tissus de la partie aérienne et de la partie racinaire de plantules d'*Atriplex nummularia* cultivés sur un sol pollué ou non par du cadmium (20  $\mu\text{M}$  de  $\text{CdCl}_2$ ) en présence de concentrations croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions ( $\pm$  SD).

- partie aérienne

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	0,00284867	3	0,000949556	0,93	0,4715
<b>Intra-groupes</b>	0,00821	8	0,00102625		
<b>Total (Corr.)</b>	0,0110587	11			

- partie racinaire

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	0,000017	3	0,00000566667	0,78	0,5367
<b>Intra-groupes</b>	0,000058	8	0,00000725		
<b>Total (Corr.)</b>	0,000075	11			

5. Dosage du cadmium dans les tissus d'*Atriplex nummularia* cultivé pendant cinq semaines sur un sol contaminé ou non par 20  $\mu\text{M}$  de Cd en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de répétitions individuelles  $\pm$  SD. Les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas significatives.

- partie aérienne

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	1,63791	5	0,327582	4,31	0,0177
<b>Intra-groupes</b>	0,911333	12	0,0759444		
<b>Total (Corr.)</b>	2,54924	17			

- partie racinaire

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	0,345517	5	0,0691033	3,25	0,0439
<b>Intra-groupes</b>	0,255333	12	0,0212778		
<b>Total (Corr.)</b>	0,60085	17			

6. Quantité total du Cd ( $\mu\text{g}$ ) dans la partie racinaire et la partie aérienne dans les tissus d'*Atriplex nummularia* cultivé pendant cinq semaines sur un sol contaminé ou non par 20  $\mu\text{M}$  de Cd en présence de doses croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de répétitions individuelles  $\pm$  SD. Les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas significatives.

- partie aérienne

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	273,964	5	54,7927	3,77	0,0206
<b>Intra-groupes</b>	217,797	15	14,5198		
<b>Total (Corr.)</b>	491,76	20			

- partie racinaire

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	0,277924	5	0,0555849	2,60	0,0696
<b>Intra-groupes</b>	0,32114	15	0,0214093		
<b>Total (Corr.)</b>	0,599064	20			

7. Quantité du Cadmium excrétée à partir du tissu des feuilles d'*Atriplex nummularia* traités avec 20  $\mu$ M de Cd en présence de concentrations croissantes de NaCl (0, 2 et 6 g/l). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions ( $\pm$ SD).

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
<b>Inter-groupes</b>	24,7027	4	6,17567	22,00	0,0001
<b>Intra-groupes</b>	2,80667	10	0,280667		
<b>Total (Corr.)</b>	27,5093	14			



## Phytoextraction of Cd by *Atriplex nummularia* L., a xero-halophyte species

H. Badache<sup>1,2\*</sup>, H. Sbartai<sup>2</sup>, M.R Djebbar<sup>2</sup>, E. Manousaki<sup>3</sup>, J. Bourguignon<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Agricultural Production Laboratory and Sustainable Natural Resource Valuation of University of Khemis-Miliana, Algeria

<sup>2</sup>Cellular Toxicology Laboratory, Department of Biology, University Badji Mokhtar, Annaba, Algeria

<sup>3</sup>Technical University of Crete, Department of Environmental Engineering, Laboratory of Biochemical Engineering & Environmental Biotechnology, Polytechniopolis, 73100, Chania, Greece

<sup>4</sup>Plant Cell Physiology Laboratory, Univ. Grenoble Alpes. CEA, CNRS, INRA, CEA Grenoble, France

**Key words:** *Atriplex nummularia*, Cadmium, Salinity, Accumulation, Phytoextraction.

<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/6.8.130-5>

Article published on April 25, 2015

### Abstract

This work is in the perspective to test if the species halo-xerophyte *Atriplex nummularia* L. which is a perennial shrub type C<sub>4</sub> metabolism present in addition to its water resistance capacity and salt stress, a resistance metal stress. *Atriplex nummularia* plants were exposed to a mixture of cadmium (20 microM) and a range of increasing concentrations of NaCl [0; 34.2 mm (2 g / l) and 102.6 mm (6 g / l)]. After the analysis of physiological parameters such as dry matter and the amount of total chlorophylls, it has interested to become of the metal in the plant. Again, it has determined the amount of cadmium accumulated in the different organs of the plant and the amount excreted by the leaves. The results obtained show that *Atriplex nummularia* plant salt tolerance can also accumulated the cadmium. While the cadmium content of roots does not vary regardless of amount of NaCl present in the medium, these of leaves increases with the addition of salt and proportionally to the amount of NaCl in the medium. Cadmium excretion by excretory glands present in these leaves was observed and quantified. This characterization of the properties of completely original *Atriplex nummularia* vis-à-vis cadmium allows to be considered this xero-halophytic plant as a new potential candidate for the use in phytoremediation strategies of soil contaminated with heavy metals and more precisely "phytoextraction".

\* Corresponding Author: H. Badache ✉ [badachehakim@yahoo.fr](mailto:badachehakim@yahoo.fr)

## Introduction

Reconciling the development of human activities and respect for the environment is a major issue. The taking into account the late consequences caused by human activities has led to the accumulation of toxic substances, disrupting the fragile balance many ecosystems. Since early of the industrial revolution, pollution of the environment, including soil, is accelerated dramatically (Yanai *et al.*, 2006). Among the substances that contribute to anthropogenic pollution of the biosphere, trace metals are among the most toxic, four of them are among the top ten of the pollutants 'Priority List of Hazardous Substances' established by The Comprehensive Environmental Response, compensation, and Liability Act (CERCLA, <http://www.atsdr.cdc.gov/SPL/index.html>).

Cadmium (Cd), seventh in this list is a relatively rare heavy metal in the ecosystem (McBride, 1995) and particularly toxic to humans. (Moulis *et al.*, 2014) Numerous studies have shown that the presence of trace metal elements and more particularly the Cd in the culture medium can translate, beyond a certain limit by the appearance of signs of toxicity, along with a inhibition of the weight of plant growth, a reduction in photosynthetic activity and reduced absorption of nutrients (Zhou and Qiu, 2005; Clemens, 2006; Verbruggen *et al.*, 2009; DalCorso *et al.*, 2013). The use the approach 'omics' has also enabled to demonstrate or confirm the cellular and molecular mechanisms disturbed or exacerbated by metal trace elements and particularly Cd (, Herbette *et al.*, 2006; Le Lay *et al.*, 2006; Sarry *et al.*, 2006; Villiers *et al.*, 2011; Doustaly *et al.*, 2014; Ovecká and Takáč, 2014). Heavy metals are non-biodegradable components and must therefore be extracted from the polluted sites if it is desired to remove. As well, phytoremediation, recent technique inexpensive of depollution, uses plants to decontaminate polluted soil (Salt *et al.*, 1998; Pilon-Smits, 2005, Vangronsveld *et al.*, 2014). Phytoextraction consist, in particular, to extract the metal compounds bioavailable, present in soils for to store in the aerial parts of the plant. Some plants, say metallophytes are particularly interesting because they are able to develop normally in highly

contaminated sites by various metals. Some of these plants, qualified hyperaccumulators, are able to store large quantities of metals in their aerial parts (Bani *et al.*, 2007, Montarges-Pelletier, 2008; Kraemer, 2010). The levels may be higher than 100 µg.g<sup>-1</sup> of dry matter for the Cd, above 1000 for arsenic, cobalt, copper, lead, nickel, selenium and above 10000 to the manganese and zinc. (Kraemer, 2010).

Other plant species were also tested for their ability to accumulate metals. This is the case of field crops such as sunflower (*Helianthus annuus*), maize (*Zea mays*), tomato (*Lycopersicon esculentum*), potato (*Solanum tuberosum*) and rapeseed (*Brassica napus*) (Baghour *et al.*, 2001, Rossi *et al.*, 2002, Zoghلامي *et al.*, 2006; Vamerali *et al.*, 2010; Sbartai *et al.*, 2012). These plants are not able to accumulate the metals as much as hyper accumulating plants but, given their large biomass, some are also used in phytoremediation strategies. (Vamerali *et al.*, 2010) Recent studies suggest that salt-tolerant plants can also be useful in this decontamination strategy salty soils polluted or not (Lutts *et al.*, 2004; Kadukova and Kalogerakis, 2007, Kadukova *et al.*, 2008; Manousaki *et al.*, 2008, Manousaki and Kalogerakis, 2011). Preliminary works in various areas of Tunisia have shown that saline depressions colonized by halophytes species are often the sites of accumulation of rich industrial effluents Cd, nickel and lead (Nouari *et al.*, 2002; Ghnaya *et al.*, 2005, Manousaki and Kalogerakis, 2011).

The main objective of this study was to explore the potential for phytoextraction of Cd in a xero-halophyte species *Atriplex nummularia* L. little studied in saline soil contaminated with Cd. Particular attention was paid to the study of plant growth parameters and distribution of Cd between the root and aerial parts.

## Materials and methods

### Culture conditions

Seedlings of *Atriplex nummularia* L. (Chenopodiaceae), aged two months ( collected in Tademaït region, of Djelfa province, Algeria) are transferred individually in plastic pots (21.5 cm high

and 24 cm diameter) filled with the same amount of substrate (2/3 1/3 peat and sand). The intake of trace elements is ensured by regular irrigation (once a week) Hoagland nutrient solution. After two weeks of acclimatization in a greenhouse, the plants were treated for five weeks with different doses of sodium chloride NaCl (0, 2 and 6 g / l) in the presence or not of cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>, 20 microM). Treated plants were watered three times a week with 200 ml of solution containing different salt concentrations.

#### *Analytical Techniques*

##### *Determination of dry matter*

After treatments, the plants were cut and separated into roots and shoots. Each organ was weighed immediately to determine its fresh material (MF). The roots, previously rinsed with tap water and twice with deionized water, and the aerial parts are placed in an oven at 65 ° C for the determination of their mass of dry matter (DM).

##### *Determination of chlorophylls*

Chlorophylls were extracted and assayed from 200 mg of leaves as described by Harborne. (Harborne, 1984) Measuring the chlorophyll content was determined using a spectrophotometer at two wavelengths (648 and 664 nm).

##### *Determining the amount of Cd excreted on the sheet surface*

Determining the excretion of Cd on the sheet surface was performed according to the method of Hagemeyer and Waisel (Hagemeyer and Waisel, 1988). The upper part of the plant is washed with 100 ml of a nitric acid solution, 0.1% (v / v) for 2 minutes. Such a complete flush procedure was applied in order to dissolve all the compounds on the surface of the sheet and within the crypts. The dosage of Cd is carried by atomic emission spectrometry (Perkin-Elmer Analyst 300) on extracts filtered beforehand.

##### *Determination of Cd accumulated by plants*

Determining the amount of Cd accumulated by the plant *Atriplex nummularia* was performed according to the method described by Soon (Soon, 1998). The

previously dried plant material, weighed and then ground, is subjected to incineration with a muffle furnace for 4 or 5 hours at 600 ° C. After incineration and obtaining a whitish residue, a standard volume (10 ml) of a solution of HCl (2N) is added to the ash. The solution is then diluted by adding 50 ml of distilled water. Measurements of Cd concentrations were performed by atomic emission spectrometry (Perkin-Elmer Analyst 300), extracts filtered beforehand.

#### *Statistical analysis*

The experiments were repeated at least three times and the results presented are expressed as mean ± SD calculated lower probability threshold or equal to 95%. The meaning of differences between control and treated plants to Cd and / or salt was determined using the Fisher test (LSD). These analyzes are performed using the Statgraphics program at P <0.05 (Statgraphics Centurion XV Version 15.2.14, StatPoint, inc., USA).

## **Results and discussion**

### *Impact of cadmium biomass *Atriplex nummularia* L. according to the salinity of the medium*

Plants grown in a saline environment have lower dry aerial parts which are one of the symptoms of the toxicity salt. In our experience, *Atriplex nummularia* plants treated with 0, 2 and 6 g/l NaCl in the absence of Cd develop no visible sign of toxicity sodium salt (not shown). Fig. 1 shows the variation of biomass dry matter (DM) shoot and root *Atriplex nummularia* following the different treatments (Series o/NaCl: o/o, o/2 and o/6 in the absence of treatment Cd and serial cd/o; cd/2 and cd/6 in the presence of 20 microM CdCl<sub>2</sub>). We observe that the dry matter of root portions is not affected by the salt treatment alone, even for the highest concentration of NaCl (0.73 g / plant in the presence of 6 g / l NaCl 0.58 g vs in the witness). In the aerial parts, the saline treatment to 2 g / l does not affect biomass whereas a reduction of the latter about 53% was observed after treatment with 6 g / l, from 8.64 g dry matter (o/o) to 3.86 g (o/6). When the saline treatment is combined with treatment with Cd drastic reduction of biomass

to the root level is observed compared to saline treatment single. The dry matter ranges from 0.73 g (0/6) to 0.298 g (Cd / 6) a decrease of 59%. An entirely similar reduction appears even without saline treatment. In contrast to root parts, the biomass of the aerial parts tends to increase in the presence of Cd. She spends 8.64 g (0/0) to 17.53 g of dry matter

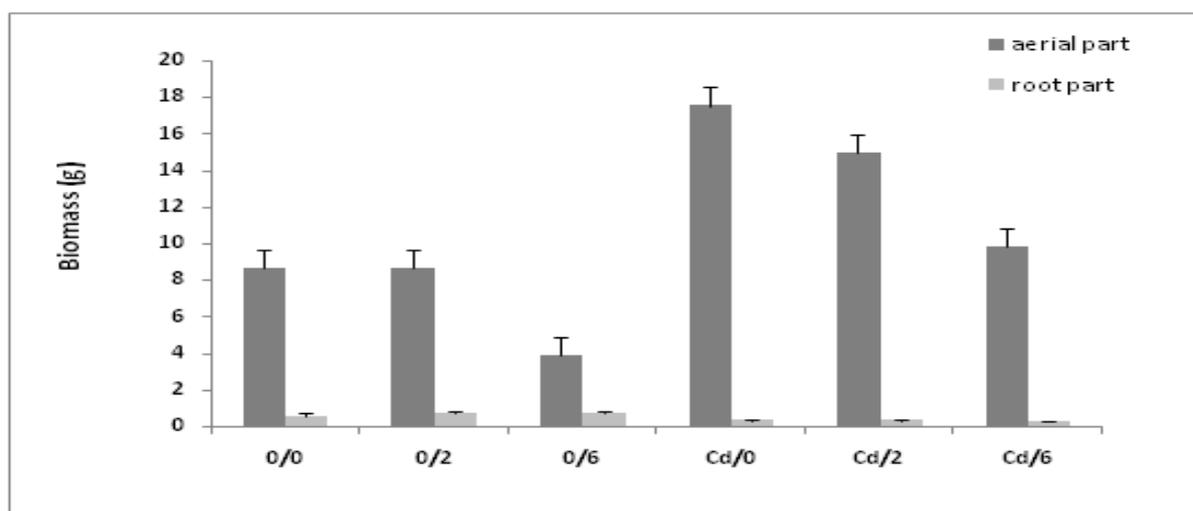
(Cd/0), 8.64 g (0/2) 14.95 g (Cd/2) in the presence of NaCl 2 g/l and 3.86 g (0/6) to 9,85g for the highest concentration of NaCl (Cd / 6). However, the intake of high doses salt (6 g / l) affects the biomass that is then of the order of 3.86 g / plant but which remains well below the value obtained in the presence of Cd treatment (9.85 g).

**Table 1.** Determination of cadmium in *Atriplex nummularia* tissues cultivated for five weeks in contaminated soil or not with 20  $\mu$ M Cd in the presence of increasing amounts of NaCl (0, 2 and 6 g / l). Each value represents the mean  $\pm$ SD of individual repetitions. Values followed by the same letters are not significant.

Treatments	Content Cd ( $\mu$ g/g MS)			Cd Total ( $\mu$ g)	
	Aerial part (A)	Root part (R)	Ratio A/R	Aerial part (A)	Root part (R)
Cd : 0 ; NaCl : 0	0,31 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	0,48 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	0,65	2,679 $\pm$ 0,07	0,280 $\pm$ 0,02
Cd : 0 ; NaCl : 2 g/l	0,46 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>	0,26 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	1,77	3,975 $\pm$ 0,18	0,185 $\pm$ 0,03
Cd : 0 ; NaCl : 6 g/l	0,13 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,23 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	1,57	0,532 $\pm$ 0,01	0,168 $\pm$ 0,01
Cd 20 $\mu$ M ; NaCl : 0	0,59 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	0,57 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	1,04	10,344 $\pm$ 0,17	0,185 $\pm$ 0,01
Cd 20 $\mu$ M ; NaCl : 2g/l	0,71 $\pm$ 0,44 <sup>b</sup>	0,48 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	1,48	10,823 $\pm$ 0,73	0,153 $\pm$ 0,01
Cd 20 $\mu$ M ; NaCl : 6 g/l	1,07 $\pm$ 0,38 <sup>c</sup>	0,57 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	1,88	10,857 $\pm$ 0,63	0,182 $\pm$ 0,01

It therefore, seems that the presence of Cd clearly improves the fitness of *Atriplex nummularia*. Indeed, the addition of alone Cd in the culture medium enhances the production of biomass. Low concentrations of Cd are acting positively on the growth rate and hence *Atriplex nummularia* biomass production that looks better withstand stress Cd another halophyte plant *Tamarix smyrnensis* (Manousaki *et al.*, 2008). (Zoughlami *et al.*, 2006 and Sbartai *et al.*, 2008) showed the same positive

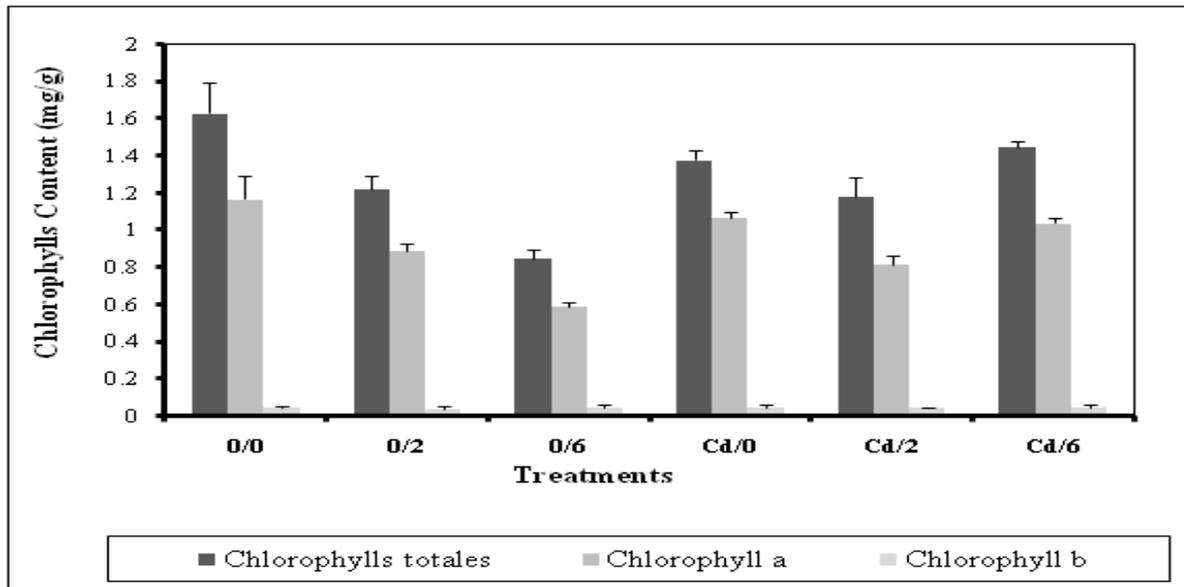
phenomenon by explaining the synergistic potential role Cd at low concentration in enhancing the absorption of trace elements in *Lycopersicon esculentum*. In contrast, the presence Cd combined with the NaCl decreases biomass more above all to high salt concentrations. These values, however, remain higher than those of control and the only salt treatment and thus confirm the positive effect of Cd / NaCl mixture on the fitness of the plant.



**Fig. 1.** Variation of dry biomass (g / plant) of aerial and root parts of plants *Atriplex nummularia* L.) grown on polluted soil or not with cadmium (20 microM CdCl<sub>2</sub>) in the presence of increasing amounts of NaCl (0, 2 and 6 g / l). Each value represents the average of three replicates ( $\pm$  SD).

Finally, the toxic effect of alone saline treatment on biomass production is visible at a concentration of 6 g/l (102.6 mM) but is not at a concentration of 2 g/l (34 mM). Nevertheless, it seems qu' *Atriplex nummularia* an halophyte more sensitive to NaCl as *Sesuvium portulacastrum* resistant to concentrations

of 200 mM (11.3 g / l) and even better grows in these culture conditions. (Mariem *et al.*, 2014) The growth of *Tamarix smyrnensis* is little affected in the concentration of 5 g/l and is enormously to the concentration of 30 g/l (532 mM) (Manousaki *et al.*, 2008).



**Fig. 2.** Variations of the contents of chlorophylls a, b and total (mg / g) in the leaves of *Atriplex nummularia* grown on polluted soil or not with cadmium (20 microM CdCl<sub>2</sub>) in the presence of increasing concentrations of NaCl (0, 2 and 6 g / l). Each value represents the average of three replicates ( $\pm$  SD).

#### Impact of a treatment associated with a cadmium salt stress on chlorophyll synthesis in *Atriplex nummularia* L.

Fig. 2 shows that the only saline treatment disrupts the total chlorophyll content which decreases with increasing concentrations of NaCl. This diminution can attain 48% at the highest concentration (6 g / l) NaCl (0.85 mg / g of fresh material vs 1.63 mg / g in the control). This diminution is essentially linked to a reduction in chlorophyll a (Figure 2), the values of chlorophyll b varies little whatever the concentration of NaCl. By against, in the presence of Cd, the plant seems to be protected, the contents of chlorophylls are less affected and this is particularly visible in the presence of a concentration of 6 g / l NaCl.

The decrease in the amount of chlorophyll is a symptom of toxicity in plants. Such a decrease caused by the stress of cadmium was observed in halophytes *Tamarix smyrnensis* (Kadukova *et al.*, 2008) and

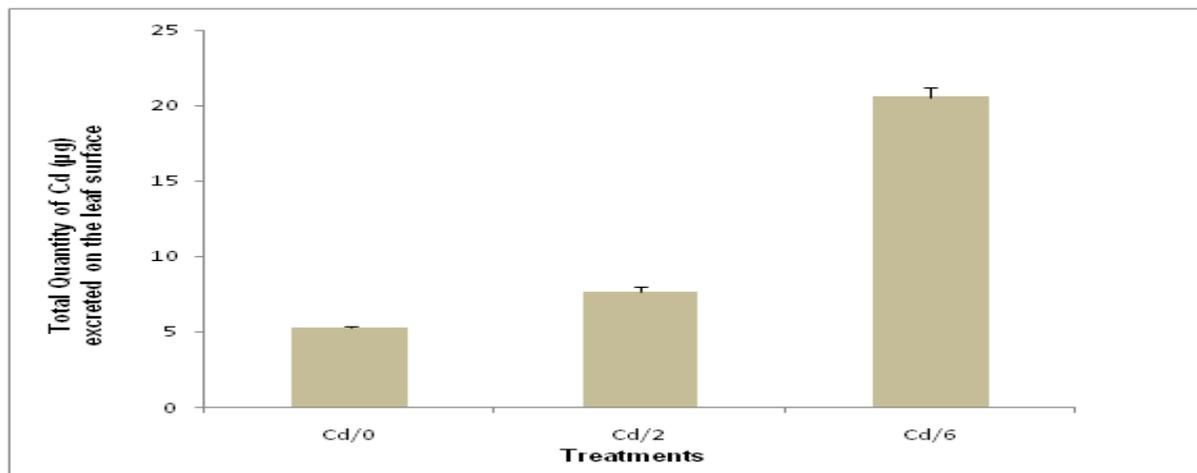
*Mesembryanthemum crystallinum*. (Ghnaya and al., 2005) In our experiment, the decrease in chlorophyll content was observed that presence of NaCl whereas the presence of Cd and Cd / NaCl mixture enhances the same rate. This confirms once more the positive role of low concentrations of Cd on the plant *Atriplex nummularia* which is to connect with the previous observations on the growth of the plant. *Sesuvium portulacastrum* is another halophyte plant that also seems to be also tolerant to Cd (Ghnaya *et al.*, 2005, Mariem *et al.*, 2014).

#### Cadmium accumulation in *Atriplex nummularia* L. depending on the salinity of the medium.

The results show that the addition of 20 microM Cd in the culture medium in the absence of sodium chloride, increases the amount of metal in the aerial parts of which passes from 0.31 to 0.59  $\mu$ g/g DM (2 times control value), whereas in the roots, the amount of accumulated Cd pass from 0.48 to 0.57  $\mu$ g/g DM

(Table 1). In the experience, the crops have been irrigated with tap water that has proven to be contaminated with Cd, which explains the presence of Cd in cultures in theoretical absence of Cd (0/0; 0/2 and 0/6). We observe that the addition of NaCl with Cd in the culture medium modifies the accumulation of this last in the plant. Indeed, the endogenous levels

of Cd in the plant increase with increasing the content of exogenous salinity. This effect is more pronounced in the aerial parts with a maximum accumulation of 1.07  $\mu\text{g/g}$  DM compared to root parts where the accumulation of Cd is constant, equivalent to an average of 0.52  $\mu\text{g/g}$  DM.



**Fig. 3.** Quantity of cadmium excreted from leaf tissue of *Atriplex nummularia* treated with 20 microM Cd in the presence of increasing concentrations of NaCl (0, 2 and 6 g / l). Each value represents the average of three replicates ( $\pm$  SD).

In addition, Table 1 shows that salinity significantly affects the translocation of Cd from the roots to the aerial parts of *Atriplex nummularia* L. (A / R). This report evolves 1.04 for treatment without salt (Cd / 0) to 1.48 in the treatment with 2 g/l of salt (Cd/2), eventually reaching the 1.88 value in the treated plants with 6 g / l NaCl (Cd / 6). The same observations were recorded by measuring the total amount of Cd in the plant (Table 1). Indeed, the addition of Cd in the culture medium in the absence of salt increased its accumulation in the shoots where its value is 10.34  $\mu\text{g}$  significantly higher than the control (2.68  $\mu\text{g}$ ). These values are slightly improved in the presence of NaCl where total Cd accumulation reaches 10.82  $\mu\text{g}$  during treatment (Cd / 2) and 10.85  $\mu\text{g}$  to the highest concentration (Cd / 6). Contrast to aerial parts, its accumulation in the roots remains unchanged whatever the concentrations of NaCl in the culture medium.

In plants, salinity is a key factor in the translocation of metals from roots to shoots. The study shows that

the Cd accumulation in leaves of *Atriplex nummularia* increases with increasing concentrations of NaCl. The results differ from those of (Mariem *et al.*, 2014) obtained with *Sesuvium portulacastrum* which show that in this halophyte Cd concentration does not increase when the salt concentration increases in the culture medium. In *Sesuvium portulacastrum*, salt prevents translocation of Cd to shoots. Similar data were also observed with lead in *Atriplex halimus* (Kadukova and Kalogerakis, 2007). Against by the behavior of *Atriplex nummularia* approximates that of barley. Indeed (Wahla and Kikham, 2008) showed that in barley translocation of Cd in the leaves was higher in the presence than in the absence of NaCl in the soil. It appears clearly that the behavior of Cd and particularly its translocation differs from a species to another. However, further experiments should be considered with the use of higher concentrations of Cd to see if *Atriplex nummularia* is able to accumulate as much Cd as *Sesuvium portulacastrum* which accumulates at concentrations higher than 100  $\mu\text{g/g}$  of leaves are

those found in plants accumulating metals (Kraemer, 2010; Mariem *et al.*, 2014).

*Determining the excretion of cadmium to the leaf surface of Atriplex nummularia L.*

Fig. 3 illustrates the excretion of Cd on the surface of leaves according to the different treatments carried. This excretion increases as the concentration of NaCl increases. She spends 5,26  $\mu\text{g}$  (Cd / o) to a maximum of 20,57 $\mu\text{g}$  to the highest concentration of NaCl (6 g / l NaCl) (Cd / 6).

In many species of halophytes, resistance to salt stress is associated with the presence of specialized bodies such as vesicular hairs (trichomes) and excretory glands on the surface of leaves that give them a more or less whitish aspect shiny (Malcolm *et al.*, 2003; Manousaki and Kalogerakis, 2011). These anatomical structures are specialized in the elimination of  $\text{Na}^+$ , is happening to the leaves through the xylem then in the mesophyll.  $\text{Na}^+$  is stored in the trichomes before it is excreted by the degeneration of the latter, thus preventing the accumulation of toxic cation in leaf tissue (Barhomi *et al.*, 2006).

However, it was found that the excretory glands of plants of the genus *Tamarix aphylla* or *smymensis* are not selective. Indeed, the composition of the salts secreted by the leaves of this plant varies depending on the medium composition and may contain metals such as Cd (Hagemeyer and Waisel, 1988; Storey and Thomson, 1994; Manousaki *et al.*, 2008). Our study confirms this hypothesis; *Atriplex nummularia* excretes Cd associated with salt crystals on the surface of the leaves. Furthermore, the excretion of Cd increases with increasing salinity of the medium. The concentration of Cd excreted by halophyte on grown contaminated and saline (2 g / l NaCl) is six times ( $\approx 6$ ) higher than that of plants grown on non-saline polluted environment. The excretion of metals on the surface of the leaves is no doubt one of the means which allows it to resist metal stress. (Manousaki *et al.*, 2008) All these features make the plant *Atriplex nummularia* a female candidate for use in phytoremediation strategies.

## Conclusion

The results show that combined treatment with saline and presence of Cd improves the production of biomass and the fitness of the plant *Atriplex nummularia* L. In contrast, salinity significantly affects the accumulation and translocation of Cd of roots towards the aerial parts of the plant. However, the toxicity level of Cd in the leaves of plants is not attained; this suggests that *Atriplex nummularia* uses an exclusion mechanism to remove excess metal for sensitive tissues as a possible mechanism of detoxification. The excretion of the metal increases with increasing salinity which confirms that excretory glands *Atriplex nummularia* are not selective, and composition of the salts secreted is related to the composition of the root environment. Finally, xero-halophyte species *Atriplex nummularia* L. could be a new candidate plant capable of being used in field of phytoremediation. These plants could be an interesting model for the study of mechanisms metal exclusion but also can be used for cultivation on soils contaminated with metals. This contributed to avoid the risk of contamination of the food chain via the feed consumption by animals or direct consumption by human.

## Acknowledgment

I wish to express my sincere thanks first of all to all those who have helped me realize what work, especially Mr. M.GUESMIA, to have made available to me plant material, necessary to my experimentation Mr. R. LABADI for allowing me dosed cadmium and finally Mr. S. Estouri that made me helping in the statistical treatments of data.

## References

**Baghour M, Moreno DA, Villora G, Hernandez J, Castilla N, Romero L.** 2001. Phytoextraction of Cd and Pb and physiological effects in potato plants (*Solanum tuberosum* var. *Spunta*): Importance of root temperature. Journal of Agricultural and Food Chemistry **49**, 5356-5363.

<http://dx.doi.org/10.1021/jfo10428x>

**Bani A, Echevarria G, Sulce S, Morel JL, Mullai A.** 2007. In-situ phytoextraction of Ni by a

native population of *Alyssum murale* on an ultramafic site (Albania), *Plant and Soil* **293**, 79-89.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-007-9245-1>

**Barhomi Z, Djebali W, Smaoui A, Chaibi W, Abdelly C.** 2007. Contribution of NaCl excretion to salt resistance of *Aeluropus littoralis* (Willd) Parl, *Journal of Plant Physiology* **164**, 842-850.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2006.05.008>

**Clemens S.** 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants, *Biochimie* **88**, 1707-1719.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.003>

**DalCorso G., Manara A., Furini A.** 2013. An overview of heavy metal challenge in plants: from roots to shoots, *Metallomics* **5**, 1117-1132.

<http://dx.doi.org/10.1039/c3mt00038a>

**Doustaly F, Combes F, Fievet JB, Berthet S, Hugouvieux V, Bastien O, Aranjuelo I, Leonhardt N, Rivasseau C, Carriere M, Vavasseur A, Renou JP, Vandembrouck Y, Bourguignon J.** 2014. Uranium perturbs signaling and iron uptake response in *Arabidopsis thaliana* roots, *Metallomics* **6**, 809-821.

<http://dx.doi.org/10.1039/c4mt00005f>

**Ghnaya T, Nouairi I, Slama I, Messedi D, Grignon C, Abdelly C, Ghorbel MH.** 2005. Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*, *Journal of Plant Physiology* **162**, 1133-1140.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2004.11.011>

**Hagemeyer J, Waisel Y.** 1988. Excretion of ions (Cd<sup>2+</sup>, Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, and Cl<sup>-</sup>) by *Tamarix aphylla*, *Physiologia Plantarum* **73**, 541-546.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.13993054.1988.tb05438.x>

**Harborne JB.** 1984. *Phytochemical methods—a guide to modern techniques of plant analysis*, 2nd Edition, Chapman & Hall, London, .

<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3059.1999.00318.x>

**Herbette S, Taconnat L, Hugouvieux V, Piette L, Magniette MLM, Cuine P, Auroy S, Richaud P, Forestier C, Bourguignon J, Renou JP, Vavasseur N, Leonhardt N.** 2006. Genome-wide transcriptome profiling of the early cadmium response of *Arabidopsis* roots and shoots, *Biochimie*, **88**, 1751-1765.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2006.04.018>

**Kadukova J, Kalogerakis N.** 2007. Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis* Bunge, *European Journal of Soil Biology* **43**, 216-223.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.02.004>

**Kadukova J, Manousaki E, Kalogerakis N.** 2008. Pb and cd accumulation and phyto-excretion by salt cedar (*Tamarix smyrnensis bunge*), *International Journal of Phytoremediation* **10**, 31-46.

<http://dx.doi.org/10.1080/15226510701827051>

**Kraemer U.** 2010. Metal Hyperaccumulation in Plants, *Annual Review of Plant Biology* **61**, 517-534. DOI:10.1146/annurev-arplant-042809-112156.

**Le Lay P, Isaure MP, Sarry JE, Kuhn L, Fayard B, Le Bail JL, Bastien O, Garin J, Roby C, Bourguignon J.** 2006 Metabolomic, proteomic and biophysical analyses of *Arabidopsis thaliana* cells exposed to a caesium stress. Influence of potassium supply, *Biochimie* **88**, 1533-1547.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2006.03.013>

**Lutts S, Lefevre I, Delperee C, Kivits S, Dechamps C, Robledo A, Correal E.** 2004. Heavy metal accumulation by the halophyte species Mediterranean saltbush, *Journal of Environmental Quality* **33**, 1271-1279.

<http://dx.doi.org/10.2134/jeq2004.1271>

**Malcolm CV, Lindley VA, O'Leary JW, Runciman HV, Barrett-Lennard EG.** 2003. Halophyte and glycophyte salt tolerance at

germination and the establishment of halophyte shrubs in saline environments, *Plant and Soil* **253**, 171-185.

<http://dx.doi.org/10.1023/A:1024578002235>

**Manousaki E, Kadukova J, Papadantonakis N, Kalogerakis N.** 2008. Phytoextraction and phytoexcretion of Cd by the leaves of *Tamarix smyrnensis* growing on contaminated non-saline and saline soils, *Environmental Research* **106**, 326-332.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2007.04.004>

**Manousaki E, Kalogerakis N.** 2011. Halophytes- an Emerging Trend in Phytoremediation, *International Journal of Phytoremediation* **13**, 959-969.

<http://dx.doi.org/10.1080/15226514.2010.532241>

**Mariem W, Kilani BR, Benet G, Abdelbasset L, Stanley L, Charlotte P, Chedly A, Tahar G.** 2014. How does NaCl improve tolerance to cadmium in the halophyte *Sesuvium portulacastrum*?, *Chemosphere* **117**, 243-250.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.07.041>

**McBride MB.** 1995 Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge - Are usepa regulations protective, *Journal of Environmental Quality* **24**, 5-18.

<http://dx.doi.org/10.2134/jeq1995.00472425002400010002x>

**Montarges-Pelletier E, Chardot V, Echevarria G, Michot LJ, Bauer A, Morel JL.** 2008. Identification of nickel chelators in three hyperaccumulating plants: An X-ray spectroscopic study, *Phytochemistry* **69**, 1695-1709.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.009>

**Moulis Bourguignon J, Catty P.** 2014. Cadmium, the Royal Society of Chemistry.

**Nouari I, Ghnaya T, Messeddi D, Zarrouk M, Abdelly C, Ghorbel M.** 2002. Etude de la

croissance et de la capacité d'accumulation des métaux lourds chez deux halophytes: *Mesembryanthemum crystallinum* et *Sesuvium portulacastrum*, XIIIe` journée Journal Biologie l'Association Tunisienne Science Biologie, 112.

**Ovecka M, Takac T.** 2014. Managing heavy metal toxicity stress in plants: Biological and biotechnological tools, *Biotechnology Advances* **32**, 73-86.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.011>

**Pilon-Smits E.** 2005. Phytoremediation, in: Annual Review of Plant Biology, 15-39 P.

**Rossi G, Figliolia A, Socciarelli S, Pennelli B.** 2002. Capability of *Brassica napus* to accumulate cadmium, zinc and copper from soil, *Acta Biotechnologica*, **22**, 133-140.

**Salt DE, Smith RD, Raskin I.** 1998. Phytoremediation, Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology **49**, 643-668.

**Sarry JE, Kuhn L, Ducruix C, Lafaye A, Junot C, Hugouvieux V, Jourdain A, Bastien O, Fievet JB, Vailhen D, Amekraz B, Moulin C, Ezan E, Garin J, Bourguignon J.** 2006. The early responses of *Arabidopsis thaliana* cells to cadmium exposure explored by protein and metabolite profiling analyses, *Proteomics* **6**, 2180-2198.

**Sbartai H, Djebbar MR, Sbartai I, Berrabbah H.** 2012. Bioaccumulation of cadmium and zinc in tomato (*Lycopersicon esculentum L.*), *Comptes Rendus Biologies* **335**, 585-593.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.crv.2012.08.001>

**Sbartai H, Rouabhi R, Sbartai I, Berrebbah H, Djebbar MR.** 2008. Induction of anti-oxidative enzymes by cadmium stress in tomato (*Lycopersicon esculentum*), *African Journal of plant science* **2**, 72-76.

**Soon YK.** 1998. Determination of cadmium,

chromium, cobalt, lead and nickel in plant tissue, CRC Press, London.

**Storey R, Thomson WW.** 1994. An X-ray-microanalysis study of the salt-glands and intracellular calcium crystals of *Tamarix*, *Annals of Botany* **73**, 307-313.

<http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1994.1036>

**Vamerali T, Bandiera M, Mosca G.** 2010. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review, *Environmental Chemistry Letters*, **8**, 1-17.

<http://dx.doi.org/10.1007/s10311-009-0268-0>

**Vangronsveld J, Herzig R, Weyens N, Boulet J, Adriaensen K, Ruttens A, Thewys T, Vassilev A, Meers E, Nehnevajova E, van der Lelie D, Mench M.** 2009. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field, *Environmental Science and Pollution Research* **16**, 765-794.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11356-009-0213-6>

**Verbruggen N, Hermans C, Schat H.** 2009. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants, *Current Opinion in Plant Biology* **12**, 364-372.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.001>

**Villiers F, Ducruix C, Hugouvieux V, Jarno N., Ezan E, Garin J, Junot C, Bourguignon J.** 2011.

Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches, *Proteomics* **11**, 1650-1663.

<http://dx.doi.org/10.1002/pmic.201000645>

**Wahla IH, Kirkham MB.** 2008. Heavy metal displacement in salt-water-irrigated soil during phytoremediation, *Environmental Pollution* **155**, 271-283.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.11.020>

**Yanai J, Zhao FJ, McGrath SP, Kosaki T.** 2006. Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*, *Environmental Pollution* **139**, 167-175.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2005.03.013>

**Zhou WB, Qiu BS.** 2005. Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii Hance* (Crassulaceae), *Plant Science*, **169**, 737-745.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.05.030>

**Zoghlami LB, Djebali W, Chaibi W, Ghorbel MH.** 2006. Physiological and structural modifications induced by cadmium-calcium interaction in tomato (*Lycopersicon esculentum*), *Comptes Rendus Biologies* **329**, 702-711.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.crv.2006.05.003>