République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option :Toxicologie

Thème :

Effets des eaux usées sur les paramètres biochimiques d'une plante aquatique *Lemna minor*

Elaboré par :

GUENEZ Khaoula

ATHMANI Ibtissem

Devant le jury :

M. GASMI Salim	MAB	Université de Tébessa	Président
Mm. BOUADILA Soulef	MAA	Université de Tébessa	Promoteur
Mm. BENAMARA Amel	MAA	Université de Tébessa	Examinateur

Date de soutenance : 18/06/2019

Note :…… Mention :……

Table des matières

ملخص

Résumé

Abstract

Dédicace

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre I : l'eau

Partie I: L'eau…… 01

1. Définition…..…… …… 01

2. Cycle de l'eau ……..……..... 01

3. Les sources d'eau ……..... 03

4. L'eau en Algérie…… 03

5. Qualité des eaux …… 03

6. L'utilisation de l'eau……... 04

Partie II : la pollution d'eau ……..... 04

1. Définition …….. …… 04

2. Type de pollution …… 04

3. Les trois principales sources de pollution …..……. 05

4. Principales polluant…… ……... 05

5. Conséquences de la pollution…….. 06

Chapitre II : stress oxydatif

1. Définition du stress oxydatif.…..…… …… 07

2. Les espèces réactives de l'oxygène……..……..... 08

2.1 .Formation des espèces réactives de l'oxygèn……..... 08

2.2 .Sources des espèces réactives de l'oxygène (ROS)…… …… 09

2.2.1 .Chloroplastes et l'appareil photosynthétique…… 10

2.2.2 .Peroxysomes……... 10

2.2.2.1 .β -oxydation ……..... 10

2.2.2.2 .Photo respiration…….. 11

2.2.3 .Mitochondries et chaîne respiratoire …….…… 11

3. Cibles cellulaires des ERO…… …..……. 11

3.1 .Peroxydation lipidique (lipoperoxydation) ……... 11

3.3 .Oxydation de l'ADN ….....

4 .Mécanismes de défense contre le stress oxydatif …… 13

4.1 .Systèmes antioxydants enzymatiques …… 13

4.2 .Systèmes antioxydants non enzymatiques……. 13

4.2.1 .Flavonoïdes…… 13

4.2.2 .Les caroténoïdes …….. 14

4.2.3 .L'acide ascorbique…… 14

4.2.4 .Le glutathion……..... 14

Chapitre III : Matériels et méthode

1. Présentation de la région …….…… 15

1.1-Situation géographique ……..... 15

2. Matériel végétale : la plante Lemna minor ……..... 16

2.1- Description…… 16

2.2- Classification ……. 17

2.3-Traitement de l'eau ……..... 18

3. Echantillonnage ……..…….. 18

3.1. Méthode d'échantillonnage …….. 18

3.2- Choix des stations de prélèvement de d'échantillonnage ……..... 19

4. Conditions de l'expérimentation …… 20

5. Solution de Knop ……..……..... 20

6. Méthode de dosage…….……. 21

6.1. Extraction et Dosage de la Chlorophylle……. 21

6.2. Dosage des protéines totales…… …… 22

6.3 .Dosage des sucres solubles mesures …..……..... 23

Chapitre IV : résultats et discussion

Résultats…… 24

1.1.La chlorophylle a …… 24

1.2 .La chlorophylle b …….……. 26

1.3 .La chlorophylle a+b …… 28

1.4 .Les protéines totales …… 30

1.5 . les sucres solubles ……..…….. 32

2 .Discussion ……..…… 34

Conclusion

Bibliographie

Les annexes

Abstract

Pollution Urban, industrial and agricultural pollution are the causes of water pollution, by the release of many organic and inorganic pollutants. This pollution can affect the health of humans either by direct ingestion of contaminated vegetables and animals or through consumption of water.

Many macrophytes are distinguished by theirrole as water filtration and purification, the specific épuratif effect to these aquatic plants, depends on their resistance to the active ingredients causing any side effects on their metabolism. The treatment of *Lemna minor* capacity, enabling it to filter waste water, due to the large absorption capacity of the root system.

This study was conducted to prove the effectiveness of *Lemna minor* in the purification and treatment of waste water by floating macrophytes, and secondly, to test the toxicity of existing polluting effects in waste water of Oued Mellague on vital functions (oxidative stress).

When the biochemical analysis, they highlight the purifying effects of this plant, with an increase of certain factors as takenin to account that the rate of chlorophylle (a, b and a + b), protéine and sucer soluble .

Keywords: Pollution of water, phytopurification, oxidative stress, *Lemna minor*.

Résumé

La pollution urbaine, industrielle et agricole est la cause de la pollution aquatique, par le rejet de nombreux polluants organiques et inorganiques. Cette pollution peut avoir des conséquences sur la santé de l'homme soit par l'ingestion directe des végétaux et animaux contaminés soit par consommation de l'eau.

De nombreux macrophytes sont distingués par leur rôle de filtration et d'épuration hydrique. L'effet épuratif spécifique à ces plantes aquatiques, dépend de leur résistance vis-à-vis des ingrédients actifs provoquant d'éventuels effets secondaires, sur leur métabolisme.Les capacités d'épuration de *Lemna minor* , lui permettent de filtrer les eaux usées, grâce au grand pouvoir absorbant de leur système racinaire**.**

Cette étude a été menée afin de prouver l'efficacité de *lemna minor* dans l'épuration et le traitement des eaux usées par macrophytes flottants, et d'autre part, de tester l'effet de toxicité des polluants existants dans les eaux usées d'Oued Mellegue sur les fonctions vitales (stress oxydatif).

Concernant les analyses biochimiques , elles mettent en évidence le pouvoir épurateur de cette plante, avec une augmentation de certaines facteurs pris en compte à savoir les taux de chlorophylle (a, b et a+b), des protéines et des sucres solubles.

Mots Clés : Pollution d'eau, phytoépuration, stress oxydatif, *Lemna minor*

ملخص

يعتبرالتلوث العمراني ,الصناعي و الزراعي من المصادر الرئيسية لتلوث المياه , من خلال رمي الكثير من الملوثات العضوية وغير العضوية. والذي يمكن ان يؤثرعلى صحة الانسان عن طريق الغذاء او من خلال استهلاك المياه.

العديد من النباتات المائية المعروفة بدورها في تنقية المياه يعتمد على مقاومة هذه النباتات للمكونات النشطة مما يؤدي الى اثار جانبية على عملية ايضها قدرة التصفية لنبتة عدس *الماء Lemna minor* تسمح لها بتنقية المياه الملوثة. بفضل قوة امتصاص الكبيرة نظرا لاهمية نظامها الجذري ,هذا الاخير يمتلك قدرة امتصاص كبيرة للمواد السامة.

وقد اجريت هذه الدراسة لاثبات فعالية عدس الماء في تنقية ومعالجة المياه الملوثة , ومن جهة اخرى , لاختبار تاثير سمية الملوثات الموجودة في هذه المياه (مياه واد ملاق) على الوظائف الحيوية (الاجهاد التاكسدي).

عندما قومنا بالتحاليل البيوكميائية , تبين لنا قدرة هاته النبتة عى معالجة المياه مع الزيادة في بعض العوامل مثل معدل الكلوروفيل (ا,ب) و (ا+ب),البروتين و السكريات .

<u>الكلمات المفتاحية:</u>. التلوث المائي, تنقية المياه ,الاجهاد التاكسدي, عدس *الماء Lemna minor*

Dédicace

Afin d'être reconnaissant envers ceux qui m 'ont appuyé et encouragé à effectuer ce travail de recherche, je dédie ce mémoire :

À mon très cher ***Baba Ali*** *pour son soutien moral, et pour tous les sentiments d 'affection et d 'amour qui représentent pour moi le pilier de tous mes efforts.*

À ma très ***chère mère*** *et à mon* ***grand-mère*** *qui n 'ont cessé de me combler par leur amour et leur tendresse.*

A mes chers frères ***(tarek, sohaib, fares)*** *Et sœurs* ***(imen, wissem, ikrem)*** *pour leurs encouragements.*

A mes fidèle amies: ***Louzma, Hiba, Ziko,Bassoma, khokha, Mohammed.***

À tous les membres de ma famille sans aucune exception. Et à tous ceux que ma réussite leur tient à cœur.

**** khaoula G ***



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail qui est la conséquence de longues années d'études, en premier lieu :

À Ma très cher MÈRE: qui m'a toujours encouragé, conseillé et pour sa compréhension, sa patience et son soutien moral et financier, à qui je dois beaucoup, pour son soutien afin de me voir parvenir à ce qui je suis devenue aujourd'hui.

À Ma très chère sœur « Wafa ;Noura ;Sonia ; Imane » et mon très cher frère « Dayaib et Faris ».

À toute ma famille

À tous mes amis chacun par son nom, et collègues

À ceux qui a proche à mon cœur « nounou ».

Mon amie et ma binôme : khawla

À toutes les personnes qui me connaissent de près ou de prés loin, seulement pour leur existence.



IBTISSAM

Remerciement

Nous exprimons d ’abord nos profonds remerciements à notre DIEU

qui nous a donné le courage et la volonté pour achever ce travail.

Nous tiendrons à exprimer notre grande considération et mes vives

reconnaissances à notre directeur de mémoire, ***Mme BOUADILA .Soulef,***

maitre d’ assistant à l ’université de Tébessa, pour nous avoir proposé ce sujet de recherche,

pour sa présence, pour sa patience, ses précieux conseils,

le suivi et l ’orientation et le plus important pour sa confiance,

m'apportée une aide inestimable en m’accordant son attention .

Un très grand merci à ***Mlle BEN AMMARA. Amel****, maitre-assistant à*

l ’université de Tébessa d ’avoir fait l ’honneur d ’examiner le jury, pour son aide continue, ses précieux conseils. Merci beaucoup mademoiselle...

Un très grand merci à ***Mr GASMI .SALIM****, maire assistant à l’université de Tébessa,*

pour m’avoir accepté présidence mémoire et

de faire partie du Jury de cette soutenance. Merci beaucoup monsieur...

Nous tiendrons à remercions le chef de département et tous les enseignants de biologie.

Nos sentiments de reconnaissance et de remerciements vont

également à toute personne qui a participé de près ou de loin

directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
Tableaux 01	Mobilisation des ressources en eau en Algérie (en milliards de m3)	**03**
Tableaux 02	Origines et localisations des espèces réactives de l'oxygène	**09**
Tableaux 03	Composition chimique de solution de knop , utilisé pour la culture de *Lemna minor*.	**21**
Tableaux 04	Analyse de la variance à deux critères de classification du taux de chlorophylles a en (mg/g de PF) chez les feuille de *Lemna minor* placées dans des eaux usées	**25**
Tableaux 05	Analyse de la variance à deux critères de classification du taux de chlorophylles b en (mg / g de PF) chez les feuille de *Lemna minor* placées dans des eaux usées	**26**
Tableaux 06	Analyse de la variance à deux critères de classification du taux de chlorophylles a+b en (**m**g / g de PF) chez les feuille de *Lemna minor* placées dans des eaux usées	**29**
Tableaux 07	Analyse de la variance à deux critères de classification du taux de protéines totale en (mg / g de PF) chez les feuille de *Lemna minor* placées dans des eaux usées	**31**
Tableaux 08	Analyse de la variance à deux critères de classification du taux de sucrés soluble en (µg/g de PF) chez les feuille de *Lemna minor* placées dans des eaux usées	**33**

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
Figures 01	Conceptualisation du cycle de l'eau.	**02**
Figures 02	Schématisation de la balance entre les espèces réactives oxygénées (ERO) et les antioxydants.	**07**
Figures 03	Situation géographique d'oued Mellegue.	**15**
Figures 04	Morphologie de la plante *Lemna minor*.	**16**
Figures 05	Lentille d'eau (*Lemna minor*).	**16**
Figures 06	Aspect générale de *Lemna minor*.	**17**
Figures 07	Méthode d'échantillonnage d'eau face au courant.	**18**
Figures 08	Les Stations de prélèvement d'Oued Mellegue, (a) station 1, (b) station 2 , (c) station 3.	**19**
Figure 09	les effets des eaux usées sur la teneur en chlorophylle a en (mg /g) chez les feuilles de *lemna minor* en fonction du temps.	**24**
Figure 10	Variation des effets des eaux usées sur la teneur en chlorophylle b en (mg /g) chez les feuilles de *lemna minor* en fonction du temps.	**25**
Figure 11	les effets des eaux usées sur la teneur en chlorophylle a+b en (mg /g) chez les feuilles de lemna minor en fonction du temps.	**28**
Figure 12	les effets des eaux usées sur la teneur en protéines totale (µg /mg) chez la lentille d'eau Lemnaminor en fonction du temps.	**30**
Figure 13	les effets des eaux usées sur la teneur en sucre soluble (µg/mg) chez la lentille d'eau Lamna minor en fonction de temps.	**32**

ABRÉVIATIONS

ERO	Espèces Réactives Oxygénées
GPX	La glutathion peroxydase, en anglais
CO 2	Dioxyde de carbone
RuBp	La carboxylation du ribulose 1,5-biphosphate
AOX	L ’alternative oxydase
ADN	Acide désoxyribonucléique
4-HNE	Le 4-hydroxynonénal
GSH	Le glutathion
APX	L'ascorbate peroxydase, en anglais activity-ascorbate peroxidase
GR	La glutathion réductase
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NADP	Nicotinamide adénine dinucléotide
FADH 2	Flavine Adénine Dinucléotide Réduite
UV	Ultra violée
ETM	Elément trace métallique
CTE	Les chaînes de transport d’électrons
ERA ou RNS	Espèces Réactives de l’Azote, en anglais pour Reactiv Nitrogen Species
BBC	Bleu Brillant Coumassie
BSA	L ’albumine de sérum de bœuf
TBS	Tris Buffer Saline
µ1	Microlitre
Mg	Microgramme
FAD	Flavine Adénine Dinucléotide
O2-	Anion superoxyde
H 2O 2	Peroxyde d’hydrogène
O**H-**	Radical hydroxyle
Tm	Témoin
T r	Traite
D**dl**	degré de liberté
S**CE**	somme des carrés des écarts
CM	carré moyen
P	seuil de signification
FOBS	test de Fisher

Introduction

INTRODUCTION

L'eau est une source de vie précieuse. Après l'oxygène, elle est notre second besoin vital. S'il on peut résister 5 semaines à la faim, on ne peut pas rester plus de 3-4 jours sans boire. **(Kengne, 2000)**

Partout sur la planète, le développement des activités humaines, domestiques ou industrielles, est tributaire de la ressource en eau. Cette diversité des usages induit une série d'impacts variés sur la qualité de l'eau. **(Bouffard, 2000)**

Il existe pourtant un point commun, intrinsèquement lié à la nature de l'eau: qu'elle soit intégrée à la filière agroalimentaire ou qu'elle soit solvant universel, l'eau poursuit son cycle en rejoignant, tôt ou tard, la nappe, la rivière, le fleuve .... **(Kengne, 2000)**

Le traitement ou l'épuration des eaux usées a donc pour objectif de réduire la charge polluante qu'elles véhiculent afin de rendre au milieu aquatique une eau de qualité, équilibres naturels et de ses usages futurs (pêche, loisir, alimentation, utilisation agricole ou industrielle, etc.).**(Bouffard, 2000)**

Beaucoup d'intérêt a été porté ces dernières décennies à la phytoépuration des eaux usées. Les technologies développées exploitent les capacités d'adaptation des systèmes racinaires aux fortes charges polluantes et aux conditions d'anoxie ou d'hypoxie du substrat, entraînant des relations symbiotiques entre les microorganismes et les racines qui favorisent l'élimination des polluants.**(Kern etIdler, 1999)**

L'épuration des eaux usées domestiques fait appel à des techniques physico-chimiques et biologiques. Parmi ces dernières, l'utilisation de végétaux aquatiques, fixés sur support ou en flottation libre, acquiert de plus en plus d'importance dans le monde et particulièrement dans les pays à climat chaud où le rendement photosynthétique est important. Cette «technologie» appelée l'épuration verte (phytoépuration) présente plusieurs avantages (coût limité, mise en œuvre facile, intégration excellente dans le paysage naturel, absence de nuisances olfactives, etc.). **(Oueslati et al., 2000)**

La biomasse produite peut être valorisée par compostage, par biométhanisation ou par incorporation dans la nutrition animale. Les eaux épurées peuvent être recyclées dans certains domaines de l'agriculture ou pour alimenter les réserves d'eaux. **(Oueslati et *al*., 2000)**

Dans ce contexte nous avons mis les objectifs suivants:

Le but premier de cette étude est de déterminer si les milieux humides artificiels ou marais épurateurs peuvent constituer un système adéquat pour le traitement des eaux usées domestiques, industrielles et agricoles. Pour atteindre ce but, nous avons mis en place un système d'épuration au laboratoire (simulation in vitro). Ce système est composé de Quatre aquariums, dans lesquels des lentilles d'eaux ont été plantées (*lemna minor*).Nous avons choisis de travailler sur les eaux d'Oued Mellague en raison de leur forte pollution par des effluents industrielles, des eaux ménagères et des eaux d'irrigation agricole.

Le deuxième but est l'étude des mécanismes cellulaires (biochimiques) mis en jeux par *lemna minor*, pour épurer les eaux extrêmement polluées.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIE

Chapitre 1:

l'eau en ecotoxicologie

1. Définition

L'eau est la source de la vie et le vecteur le plus important pour la réalisation du développement durable.

Et presque aussi ancienne que notre planète : elle est apparue il y a 3 ou 4 milliards d'années. Depuis, son volume est resté globalement stable. C'est toujours la même eau qui circule et se transforme en permanence à travers le cycle de l'eau.

L'eau recouvre 72% des 509 millions de km2 de la surface du globe. On estime son volume a environ 1,4 milliards de milliards de litres d'eau !Ce volume d'eau est stable.**(Peter et *al.*, 2010)**
L'eau de la planète bleue se répartit de la manière suivante :

- 97,20% : eaux salées
- 2,15% : glaces polaires
- 0,63% : eaux souterraines
- 0,019% : eaux de surface (lacs, fleuves, et rivières)
- 0,001% : eaux dans l'atmosphère

2 .Cycle de l'eau

En ce qui concerne le mouvement de l'eau, on peut considérer la terre comme un système à circuit fermé. Dans sa représentation la plus simple, ce circuit implique des transferts d'eau desmasses océaniques vers l'atmosphère, de l'atmosphère vers les masses continentales, puis des masses continentales vers les océans. C'est de cette nature cyclique qu'est venu le terme général attribué à ces transferts d'eau, soit le cycle de l'eau. **(Peter et *al.*, 2010)**

On doit comprendre de cette figure que le rayonnement solaire, par son apport énergétique, assure le maintien du mouvement de l'eau conjointement avec l'accélération gravitationnelle. La majorité de l'eau de notre planète étant stockée dans les océans, onidentifie souventl'évaporationà partir de ces derniers comme le point de départ du cycle. **(Peter et *al.*, 2010)**

L'évaporation, causée par le réchauffement de la couche de surface des océans par le rayonnement solaire, entraîne la libération de vapeur d'eau dans l'atmosphère. Cette vapeur se déplace ensuite au gré des mouvements des masses d'air par des phénomènes de convection et d'advection. Soumise à des conditions favorables, la vapeur d'eau se condense pour former (les nuages et engendrer les précipitations.**(Peter et *al.*, 2010)**

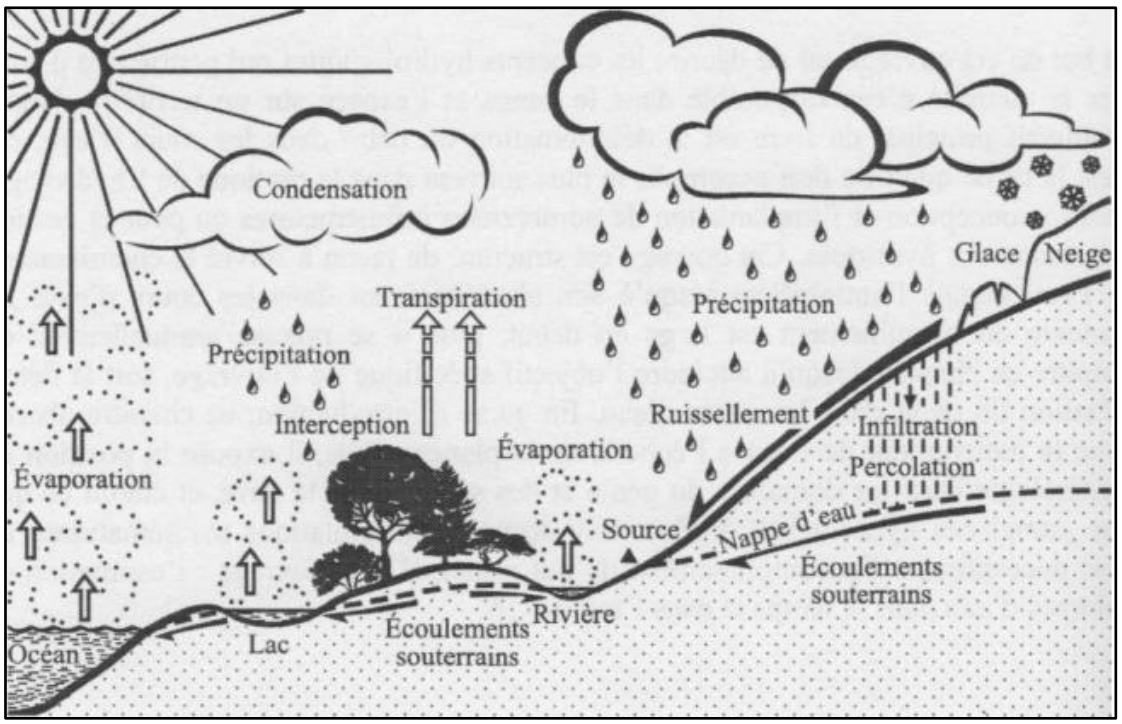


Figure 1 : Conceptualisation du cycle de l'eau. **(Peter et *al*., 2010)**

Les humains, pour des raisons évidentes, s'intéressent davantage aux précipitations qui atteignent les continents. C'est d'ailleurs là que le parcours de l'eau est le plus diversifié. Une partie des précipitations est captée par le feuillage des plantes ou retenue dans des dépressions en surface, et retourne éventuellement à l'atmosphère par évaporation. Il s'agit de l'interception. Une autre partie s'accumule dans les régions polaires ou montagneuses sous forme de neige et de glace ainsi que dans les régions nordiques durant la saison froide. Enfin, les pluies touchant le sol s'y infiltrent en pénétrant par les interstices en surface. Cette eau s'écoule ensuite par gravité dans le sol non saturé (percolation) pour rejoindre les nappes d'eau profondes. Au pied des pentes, ces nappes peuvent resurgir en surface et former une source approvisionnée par les écoulements souterrains.**(Peter et al., 2010)**

Ces écoulements convergents ultimement vers les lacs et les rivières, et le parcours de l'eau jusqu'à la mer se poursuit en surface. Si le sol est saturé ou si les précipitations dépassent la capacité d'infiltration, il se forme alors unruissellement en surface qui approvisionne directement et rapidement lacs et rivières.**(Peter et al., 2010)**

3 .Les sources d'eau

Le volume total d'eau que porte la Terre est de 1,4 milliards de km3ou 1,4 billions de m3(1,4.1012 m3). De ce volume, 2,53 %, soit 35 millions de km3(ou 35 Gm3), est de l'eau douce. **(Peter et *al*., 2010)**

La majeure partie de l'eau de la planète est salée et est contenue dans les différentes mers et océans. Une petite partie d'eau salée se retrouve aussi dans des aquifères souterrains (1 %) et dans des lacs (0,006 %). **(Peter et *al*., 2010)**

4 .L'eau en Algérie

L'Algérie est un pays dont le climat a une dominance aride en été et tempéré humide en hiver. Sa tranche pluviométrique varie entre 200 à 1200 mm/an.Par rapport à l'ensemble du pays, il faut souligner que le Tell ne représente en fait que 7% de la surface totale du pays, mais reçoit 92% des pluies alors que le reste du territoire, en particulier, le Sahara, les Hauts-plateaux et la Steppe qui constituent 93% de la superficie du pays, ne bénéficient que de 8% des chutes de pluies.**(Peter et *al*., 2010)**.

Les eaux de surface sont, en outre, inégalement réparties au niveau de l'Algérie. Au Nord,elles diminuent de l'Est à l'Ouest et elles ne sont par ailleurs, que très partiellement mobilisables. (Tableau 1)**(Peter et *al*., 2010)**

Tableau 1: Mobilisation des ressources en eau en Algérie (en milliards dem3)**. (Peter et al., 2010)**.

Type d'eau	Eaux mobilisables	Eaux mobilisées
Eaux de surface	5.7	1.8
Eaux souterraines	6.5	2.1
Total	12.2	3.9

En Algérie, l'eau est un problème crucial et permanent mais aussi une source rare mal exploitée et mal gérée. La rareté de l'eau est un facteur limitant au développement économique et à l'autosuffisance alimentaire. Sur le plan économique. L'eau est un bien dont les coûts indirects sont très élevés. **(Peter et *al*., 2010)**

5. Qualité des eaux

La qualité d'une eau est caractérisée par les diverses substances qu'elle contient, leur quantité et leur effet sur les écosystèmes aquatiques et la santé humaine. Ces substances peuvent être, soit d'origine naturelle (bicarbonates, sulfates, sodium, calcium, magnésium, potassium, azote, phosphore, aluminium, fer,...), soit découler de la présence humaine (eaux usées) ou des activités industrielles et agricoles (substances toxiques, métaux, pesticides). C'est la concentration de ces différents éléments qui détermine la qualité d'une eau.**(Isabelle et *al* ,Québec, 2013)**

6 .L'utilisation de l'eau

L'humanité utilise une quantité d'eau grandissante, parfois à un rythme approchant ou supérieur au taux de renouvellement des stocks. Bien que globalement le volume d'eau sur Terre soit constant, les problèmes surviennent parce que l'eau devient inaccessible, les sources d'eau potable diminuent ou se tarissent, mettant ainsi les régions en état de stress hydrique. L'utilisation massive d'eau se traduit par de grands défis actuels et à venir, des problèmes qui sont aggravés par le réchauffement planétaire. Encore aujourd'hui, 800 millions de personnes dans le monde n'ont pas accès à de l'eau potable ou de qualité suffisante pour leur subsistance et pour les services sanitaires. **(Bonnefoy et *al*., 2005)**

II : pollution de l'eau

1 .Définition

On appelle pollution de l'eau toute modification des caractéristiques de l'eau ayant un caractère gênant ou nuisible pour les usages humains, la faune ou la flore. Au cours de son utilisation, l'eau s'appauvrit ou s'enrichit de substances de toutes sortes, ou change de température. Les pollutions qui en résultent se retrouvent dans le milieu naturel (cours d'eau, mer). **(Djermakoye, 2004, 2005)**

2 .Type de pollution (classification selon la répartition géographique)

On a deux types de pollution selon la répartition géographique : pollution diffuse et ponctuelle**.**

- **Pollution ponctuelle**

Une pollution ponctuelle est une pollution provenant d'un site facile à localisé,et peut être par exemple le point de rejet d'un effluent ou une zone contaminée. C'estune source fixe et généralement d'émission polluantes importantes.**(Chaouki,2017)**

- **Pollution diffuse**

Sont des pollutions dues non pas à des rejets ponctuels et identifiables, maisà des rejets issus de toute la surface d'un territoire et transmis à l'environnement de façon indirecte. Les sources diffuses se caractérisent par des apports de substances émises par des sources mobiles, des sources couvrant de larges étendues ou un grandnombre de sources de pollution d'émission faible.**(Chaouki, 2017)**

3. Les trois principales sources de pollution

- ✓ **Les rejets urbains**

Résultant de la collecte et du traitement des eaux usées des ménages, des activités domestiques et artisanales ainsi que du ruissellement des eaux pluviales dans les zones urbaines,

- ✓ **les rejets agricoles**

Résultant de la percolation des eaux de pluie dans les sols et de son ruissellement, de l'épandage de produits chimiques sur les sols, des activités maraîchères et des élevages,

- ✓ **les rejets industriels**

Au niveau national, la part relative des différents secteurs est évaluée à 50% pour l'agriculture, 35% les rejets urbains et 15% pour l'industrie.

Ces proportions varient selon les types de pollutions, la part d'origine industrielle étant par exemple plus élevée pour certains polluants toxiques. **(Coulibaly, 2004 , 2005)**

4 .Principaux polluants des eaux

4.1. Pollution selon le type de polluant

Il existe plusieurs manières de classer la pollution. Selon le type de polluant, onpeut classer la pollution en trois catégories : pollution physique, pollution chimique et pollution biologique**. (Chaouki, 2017)**

- ✓ **Pollution physique**

On parle de ce type de pollution quand le milieu pollué est modifié dans sastructure physique par divers facteurs. Elle regroupe la pollution mécanique, il s'agit d'une pollution qui se traduit par la présence des particules de taille et de matière très variés dans l'eau; qui lui confèrent un caractère trouble. On distingueaussi les matières décantées (plus lourds que l'eau elle-même), les matières flottables(plus légères que l'eau elle-même) et les matières non séparables (de même densité que l'eau). **(Chaouki, 2017)**

- ✓ **Pollution chimique**

La pollution chimique des eaux résulte de la libération de certaines substances minérales toxiques dans les cours d'eaux, par exemple: les nitrates, les phosphates, l'ammoniac et autre sels, ainsi que des ions métalliques. Ces substances exercent un effet toxique sur les matières organiques et les rendent plus dangereuses.Ainsi résulte de la pollution radioactive où la radioactivité des eaux naturelles est peutêtre d'origine naturelle ou artificielle (énergie nucléaire). (**Chaouki, 2017)**.

- ✓ **Pollution biologique**

Un grand nombre de micro-organismes peut proliférer dans l'eau qui sertl'habitat naturel ou comme une simple moyenne de transport pour cesmicroorganismes. L'importance de la pollution de l'eau dépend également desconditions d'hygiènes, des populations, mais aussi des caractéristiques écologiques et épidémiologiques. Les principaux organismes pathogènes qui se multiplient dans l'eauson: les bactéries, les virus, les parasites et les champignons, on parle ainsi de la pollution bactérienne, viral où parasitaire**. (Chaouki, 2017)**

5 .Conséquences de la pollution

- ❖ Les matières organiques solubles abaissent la teneur en Oxygène dans les cours d'eau, ce qui conduit à la réduction et à la mort de la faune aquatique.
- ❖ Les matières en suspension, s'accumulent au fond des cours d'eau, lacs et étangs et causent l'augmentation de la turbidité.
- ❖ Les acides sont toxiques à la vie aquatique et détériorent les réseaux d'égaux.
- ❖ Les huiles et les graisses flottants conduisent au colmatage des conduites et donnent un aspect esthétique indésirable.
- ❖ Les métaux lourds sont toxiques à la vie aquatique **(Djermakoye, 2004, 2005)**

Chapitre 02

resultats et discussion

1 .Définition du stress oxydatif

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives oxygénées (ERO) et leurs destructions par des systèmes de défense antioxydants. **(Rousselo t et *al*., 2003)**

Les espèces réactives oxygénées (ERO) peuvent engendrer des dommages importants dans la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles: protéines, lipides et acides nucléiques. **(Pincemail et *al*., 1999)**

Dans les conditions quotidiennes normales, les espèces réactives oxygénées (ERO) sont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cela sous le contrôle de systèmes de défense adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces conditions, on dit que la balance pro-oxydant/antioxydants est en équilibre. Cette dernière peut être rompue pour diverses raisons en faveur du système pro-oxydant, et est alors à l'origine d'un stress oxydant. **(Favier, 2003)**

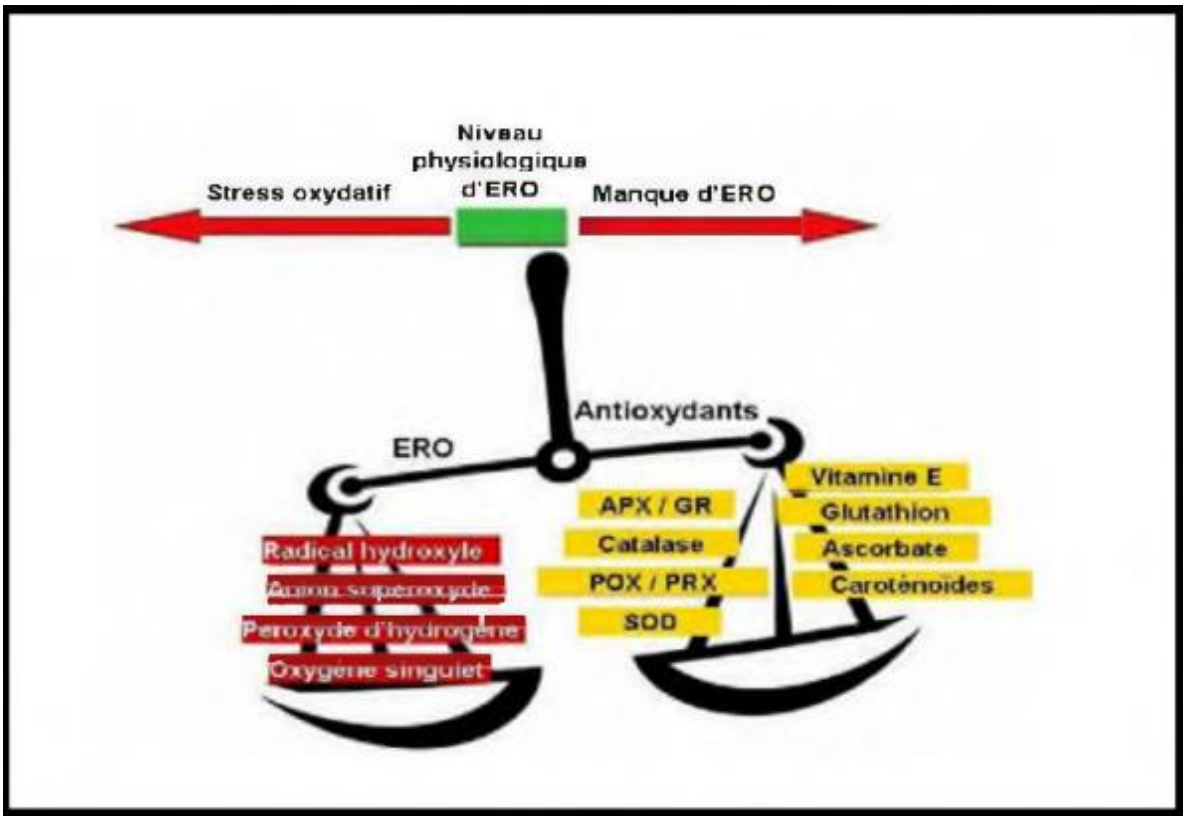


Figure 2 : Schématisation de la balance entre les espèces réactives oxygénées (ERO) et les antioxydants. **(Pourrut et *al*. , 2008)**

2 .Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont utilisées pour la description des formes d'oxygène qui sont énergétiquement plus réactives que l'oxygène moléculaire. Elles regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène mais également d'autres composés non radicalaires très réactifs. **(Asada , 2000 ; Foyer et Noctor , 2003 ; Edreva , 2005)**

Certaines espèces réactives de l'azote (ERA ou RNS en anglais pour Réactive Nitrogène Species) sont parfois mentionnées comme appartenant à cette classification puisqu'elles possèdent un atome d'oxygène et qu'elles se comportent de manière similaire (espèces généralement radicalaires, pouvoir oxydant important, générées et régulées par l'organisme) aux ERO vis-à-vis du stress oxydant. **(Smirnoff et *al*., 2005)**

Même si les ROS sont formées au cours du métabolisme normal de la plante, l'augmentation de leur concentration intracellulaire est souvent synonyme de stress. En effet, de nombreux stress (par exemple, la sécheresse, la salinité, les chocs thermiques, l'attaque d'un pathogène, les UV, les polluants atmosphériques ou encore les ETM) sont capables d'induire une production accrue de ROS**. (Noctor et al. , 1998 ; Breusegem et *al*., 2001)**

2.1 .Formation des espèces réactives de l'oxygène

Le métabolisme cellulaire chez les végétaux produit à l'état physiologique plusieurs variétés d'ERO .Dans le cas d'un stress oxydatif, ces ERO peuvent être modulés qualitativement et quantitativement. Tous les ERO ne sont pas extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. Parmi les radicaux formés chez les végétaux on distingue. **(Smirnoff et *al*., 2005)** :

- Anion super oxyde (O^{2-}) ;
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ;
- Radical hydroxyle (OH^-).

2.2 .Sources des espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Chez les plantes, il existe plusieurs sources cellulaires d'espèces réactives de l'oxygène localisées à divers endroits de la cellule **(Bertrand , 2008**), et qui sont produites de façon permanente durant le métabolisme normale et durant les périodes de stress. Ces sources incluent :

- ❖ Les chaînes de transport d'électrons (CTE) des chloroplastes;
- ❖ Les chaînes de transport d'électrons (CTE) des mitochondries;
- ❖ Certaines enzymes comme le glycolate oxydase, la xanthine oxydase et les enzymes de l'oxydation des acides gras dans le peroxysome;
- ❖ L'amine oxydase et l'oxalate oxydase dans l'apoplaste;
- ❖ Les molécules photosensibilatrices comme la chlorophylle**.(Bertrand , 2008).**

Tableau 02: Origines et localisations des espèces réactives de l'oxygène**. (Smirnoff et *al.* , 2005)**

Origine	Localisation	ERO
Photosynthèse, PSI ou PSII	Chloroplaste	O_2°
Respiration(transport d'électrons)	Mitochondrie	O_2°
Glycolate oxydase	Peroxysome	H_2O_2
Chlorophylle excitées	Chloroplaste	O_2°
NADPH oxydase	Membrane cellulaire	O_2°
B-oxydation des acides gras	peroxysome$_2$	H_2O_2
Oxalate oxydase	Apoplaste	H_2O_2
Xanthine oxydase	Peroxysome	O_2°
Peroxydase, Mn^{2+} et NADH	Membrane cellulaire	H_2O_2
Amine oxydase	Apoplaste	H_2O_2, O_2°

2.2.1 .Chloroplastes et l'appareil photosynthétique

Le chloroplaste est souvent considéré comme étant la principale source d 'ERO chez les organismes photosynthétiques. **(Foyer et Noctor, 2003; Edreva , 2005 ; Asada, 2006)**

En effet, de nombreuses situations de stress abiotiques entraînent une inhibition de la photosynthèse et les électrons qui ne participent plus à la fixation du CO2 vont entraîner la production et l'accumulation de ROS. Durant les conditions de photo inhibition, la carboxylation du ribulose 1,5-biphosphate (RuBP) est inhibée, favorisant son oxygénation et entraînant la production de phosphoglycolate. Celui-ci est transporté vers le peroxysome où il est converti en glyoxylate par la glycolate oxydase, produisant ainsi le peroxyde d'hydrogène. Les chloroplastes et les peroxysomes sont ainsi considérés comme «capteurs» des changements environnementaux Les ROS se comportent donc comme signaux «rédox», dérivés des chloroplastes, et sont susceptibles de réguler l'expression de gènes de la réponse et de l'adaptation au stress. **(Parent et *al*., 2008)**

2.2.2 .Peroxysomes

Les peroxysomes sont des vésicules cytoplasmiques minuscules (0,5 |im de diamètre) entourées d'une membrane simple contenant des oxydases et des enzymes spécifiques du métabolisme du peroxyde d'hydrogène.

Ils sont le siège d'une forte activité métabolique très centrée sur le métabolisme oxydatif **(Corpas et *al*., 2001 ; Nyathi et Baker, 2006)**,et ils possèdent de nombreux systèmes antioxydants et pro-oxydants.

2.2.2.1 .β -oxydation

La β-oxydation est un processus fondamental et commun chez les animaux, les levures et les plantes. Les composés dérivés de la β -oxydation sont impliqués dans un très grand nombre de processus cellulaires parmi lesquels l'oxydation de l'acyl CoA par la l'acyl CoA-oxydase qui entraîne la réduction du FAD en FAH2 **(Baker et *al*., 2006) ,** La régénération du cofacteur s'effectue par la réduction d'une molécule d'O2 entraînant la formation d'H2O2. **(Foerster et *al*., 1981; Baker et *al*., 2006)**





2.2.2.2 .Photo respiration

La photorespiration est un processus vital pour les plantes. Bien q u 'il apparaisse comme un mécanisme coûteux en énergie et peu rentable, ce mécanisme physiologique remplit le rôle de «soupape de sécurité» du photosystème, en évitant la saturation de la CTE chloroplastique**. (Bertrand , 2008).**

La photorespiration est un processus complexe illustrant bien les échanges de métabolites entre les différents composants cellulaires. Elle se déroule dans quatre compartiments cellulaires : chloroplastes, peroxysomes, mitochondries , auxquels s'adjoint le cytosol en tant qu'un milieu de transit. **(Bertrand , 2008)**

2.2.3 .Mitochondries et chaîne respiratoire

Chez les animaux, les mitochondries constituent la source principale de ROS. Chez les plantes, la production de ROS par les mitochondries a été historiquement minimisée par rapport à celle des chloroplastes. Cependant, avec l'identification de l'alternative oxydase (AOX), la mitochondrie pourrait devenir un facteur important dans la régulation du stress oxydatif chez les plantes. **(Parent et *al*., 2008)**

3. Cibles cellulaires des ERO

Du fait de leur grande réactivité, les ERO peuvent endommager les constituants biologiques essentiels tels que l'ADN, les lipides et les protéines et sont donc potentiellement toxiques. **(Haton , 2005)**

3.1 .Peroxydation lipidique (lipoperoxydation)

La Peroxydation lipidique est un effet majeur des radicaux libres. La plupart des membranes des cellules sont riches en acides gras polyinsaturés, et sont donc très sensibles au stress oxydant. La plupart des aldéhydes produits après lipopéroxydation sont très réactifs et peuvent être considérés comme des seconds messagers toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. Les aldéhydes les plus étudiés sont le 4-hydroxynonénal (4-H N E) et le dialdéhyde malonique (MDA). Certains produits de la peroxydation contribuent à l'adaptation des organismes aux conditions de l'environnement ou encore à la différenciation cellulaire. **(Haton, 2005) ,** Ce processus se déroule en trois phases : **(Spiteller, 1998)**

- Phase d'initiation
- Phase de propagation
- Phase de terminaison

3.2 .Oxydation des protéines

Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les protéines les plus touchées sont celles comportant un groupement sulfhydrile (-SH), comme c'est le cas pour de nombreuses enzymes et protéines de transport. **(Stadtman et Levine , 2000)**

Le peroxyde d'hydrogène, mais surtout le radical hydroxyle sont capables d'oxyder ces groupements, conduisant à l'inactivation de certaines enzymes. En particulier, la présence de radicaux hydroxyles est à l'origine de dégradations irréversibles des protéines, par la formation de groupements carbonyles sur la chaîne latérale de certains acides aminés. **(Stadtman et Levine , 2000)**

3.3 .Oxydation de l'ADN

L'oxydation des différents constituants de l'ADN induit la formation de 4 grandes classes de lésions:

- Les modifications des bases nucléiques.
- Les sites abasiques.
- Les pontages et les cassures de chaines (simple et double brins).

Les ERO sont à l'origine d'une grande variété de dommage des bases, comme la 8-oxo-7,8-dihydroxy-guanine (8-oxoG).

Par ailleurs, dans la chaine des réactions, des méthylations au niveau des bases sont observées. La conséquence de ces altérations sera une erreur de lecture lors de la transcription. **(Haton , 2005)**

4 .Mécanismes de défense contre le stress oxydatif

Le stress oxydant, conséquence naturelle du métabolisme de l'oxygène, est normalement contrôlé par des systèmes endogènes de défense antioxydant. Les antioxydants cellulaires peuvent être enzymatiques ou non-enzymatiques. Généralement, l'augmentation des activités des enzymes

impliquées dans les réactions de défense semble être liée à l'espèce ou à la variété végétale utilisée, aux conditions physiologiques de la plante utilisée, ou encore au type de stress oxydant appliqué. **(Dalila, 2009)**

4.1 .Systèmes antioxydants enzymatiques:

- Le superoxyde dismutase
- Catalase
- L a glutathion peroxydase (GPX)
  - L'ascorbate peroxydase (APX)
  - L a glutathion réductase (GR)

4.2 .Systèmes antioxydants non enzymatiques

Avant d'introduire les systèmes enzymatiques, il est important de noter qu'il existe également des systèmes non-enzymatiques de dégradation des EOR. Il s'agit le plus souvent du glutathion, de l'ascorbate, les Flavonoïdes, et des caroténoïdes. **(Gama, 2010)**

4.2.1 .Flavonoïdes

Les flavonoïdes, classe importante des poly phénols, sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques telles que: les activités antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces activités sont attribuées, en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant par :

• Capture directe des espèces réactives de l'oxygène,

• Chélation de métaux de transition comme le fer (empêchant ainsi la réaction de Fenton),

• Inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO. **(Fatiha, 2010)**

4.2.2 .Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont divisés en deux familles: les carotènes qui sont formés de 40 atomes de carbone et les xanthophylles qui, en plus, comportent un ou deux atomes d'oxygène. Au niveau du chloroplaste, les caroténoïdes, en plus de capter l'énergie lumineuse protègent les photosystèmes. **(Vincent, 2006)**

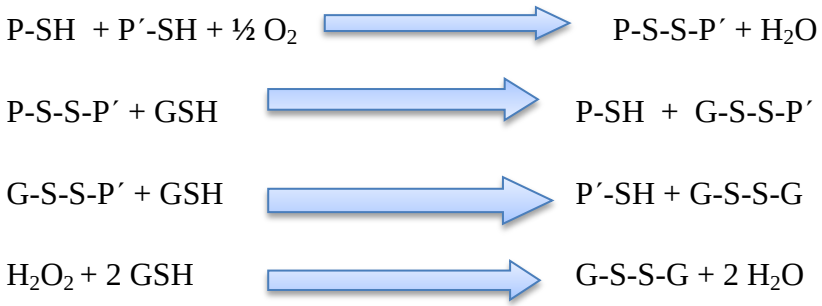
4.2.3 .L'acide ascorbique

L'acide ascorbique, communément appelé vitamine C, joue plusieurs rôles au sein de la cellule. Il se retrouve tant au niveau du chloroplaste, du cytoplasme, de la mitochondrie **(Horemans et *al.*, 2000)** ,C'est un antioxydant puissant qui réagit rapidement avec le radical super oxyde, l'oxygène singlet, l'ozone et le peroxyde d'hydrogène. **(Vincent, 2006).**

4.2.4 .Le glutathion

Le glutathion (GSH) est un tri-peptide formé dans l'ordre des acides aminés suivants: l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. Son pouvoir réducteur réside dans le groupement thiol (SH) de la cystéine. Le glutathion est présent au niveau du cytosol et du chloroplaste où il réagit avec l'oxygène singlet, l'anion super oxyde et le radical hydroxyl en plus d'être utilisé comme coenzyme afin d'exploiter son pouvoir réducteur.

Le glutathion agit de deux façons, soit par l'activité de la glutathion S-transférase qui catalyse l'échange intermoléculaire des groupements thiols entre une protéine dont les thiols sont oxydés et le glutathion selon le mécanisme suivant : **(Vincent, 2006)**



PARTIE Pratique

Chapitre 01

materiel et methodes

1. Présentation de la région d'étude

1.1. Situation géographique

Le bassin versant d'Oued Mellegue fait partie du bassin versant de "la Medjerda", il couvre une superficie de 4307 km. Cette surface est drainée par "Oued Mellegue" qui coule sur une longueur environ de 153 km depuis sa source à djebel Tadinart au Sud -ouest jusqu'à la frontière algéro-tunisienne au Nord-est. La région d'étude est située dans les territoires des wilayas de Tébessa.elle est limitée :

- A l'Est par la frontière algéro- tunisienne.
- A l'Ouest par les wilayas d'Oum El Bouaghi et Khenchela.
- Au Nord par la wilaya de Souk Ahras.
- Au Sud par la wilaya d'El Oued. **(Ladlani, 2007)**

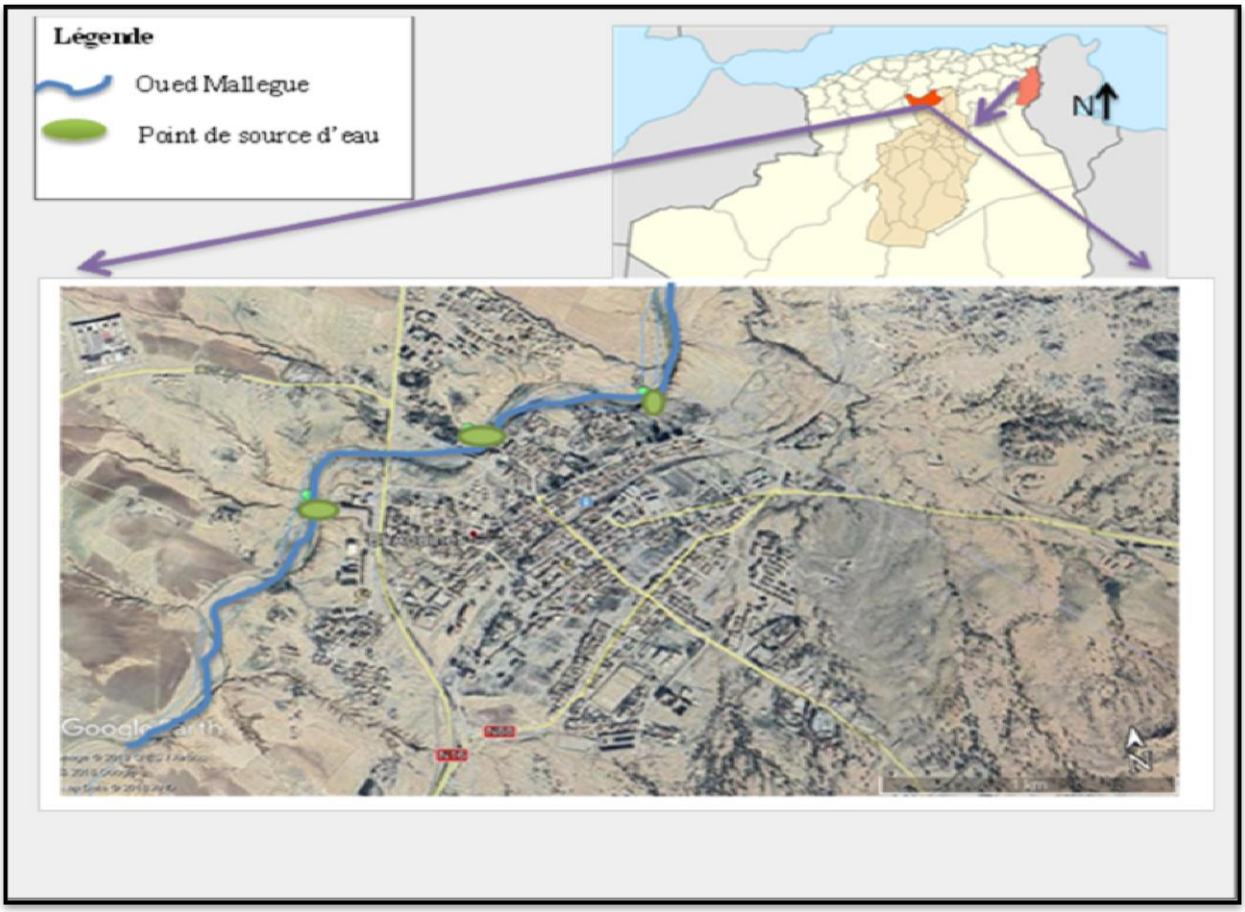


Figure 3 : Situation géographique d'oued Mellegue. (Google earth)

2. Matériel végétale : la plante *Lemna minor*

2.1. Description

Lemna minor est une angiosperme (plantes à fleurs) de 1,5 à 6 mm de diamètre, monocotylédones appartenant à la famille des ***Lemnacées***. Corps végétatif d'une forme de métalloïde correspondant, qui est dans laquelle il existe différance dans la tige et les feuilles. **(Del Pilar, 2004)**

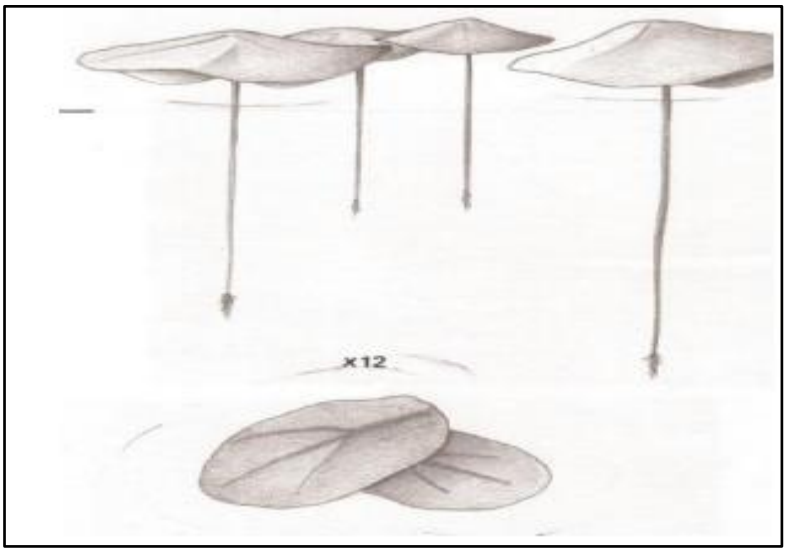


Figure 4 : Morphologie de la plante *Lemna minor* (Del Pilar; 2004).



Figure 5 : Lentille d'eau (*Lemna minor*). (Del Pilar, 2004)

2.2 .Classification

Règne plante : Plantes

Sous-règne : Tracheobionta

Division magnoliophyta : angiospermes, phanérogames

Classe liliopsida : Monocotylédones

Sous-classe : Alismatidae

Ordre : Alismatales

Famille : Araceae

Genre : Lemna

Espèce : Minor



Figure 6 : Aspect générale de *Lemna minor*. (Cauzzi, 2007)

2.3 .Traitement de l'eau

Lemna minor est utilisée pour le traitement des eaux usées (industrielles ou domestiques), en phytoépuration. Les caractéristiques que doivent avoir les plantes aquatiques utilisées pourtraiter les eaux usées sont les suivantes :

- une productivité élevée,
- une haute efficacité d'absorber des nutriments et de polluants,
- la prévalence élevée dans des conditions naturelles défavorables et facile à récolter.

Lemna minor répond à toutes ces caractéristiques et de ce fait a été utilisé dans les systèmes de décontamination de l'eau dans les conditions expérimentales de laboratoire. **(Del Pilar, 2004)**

3 .Echantillonnage

L'échantillonnage est une étape primordiale, car il conditionne la pertinence de l'analyse.il doit être de qualité mais également représentatif de ce que l'on veut analyser. **(Hebert et Legre, 2000)**

3. 1. Méthode d'échantillonnage

Le prélèvement des échantillons d'eau peut s'effectuer de plusieurs façons, selon la taille du cours d'eau et l'accessibilité au site. Dans les ruisseaux et rivières de faible profondeur, l'idéal est de se placer au centre du cours d'eau et de remplir les bouteilles à la main**. (Hebert et Legre, Octobre 2000)**

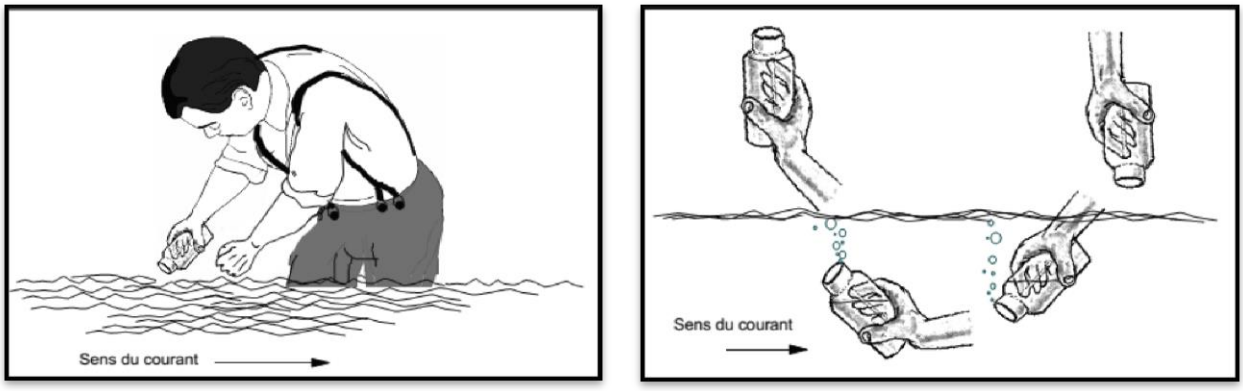


Figure 7: Méthode d'échantillonnage d'eau face au courant. (Hebert et Legre, Octobre 2000)

3.2 .Choix des stations de prélèvement

Le choix des stations de prélèvement a été effectué en fonction de la localisation et de l'accessibilité de ces derniers. En amont S1 (Partie Supérieur d'oued Mellegue), au milieu S2 (centre de la ville de la commune de l'Aouinet) et en aval S3 (Partie inférieur d'oued Mellegue). **(Figure 8)**

La zone sur laquelle porte cette étude correspond aux trois sites de la région de Tébessa :

- Site 1 : représente l'amont d'oued Mellegue situé à la route nationale n°88 qui relie la commune de l'Aouinet et Meskiana.
- Site 2 : situé à 07 km en amont d'oued qui se trouve au centre de la ville de la commune de l'Aouinet.
- Site 3 : se situe à 35 km de l'Aouinet dans la commune d'Ouenza derrière la mine.

Les 3 stations ont été choisi à cause des effluents urbains et les rejets de la station d'épuration des eaux usées de l'Aouinet qui peuvent changer les caractéristiques physicochimiques et bactériologiques de l'eau.



(a)



(b)



(c)

Figure 8: Les stations de prélèvement d'Oued Mellegue, (a) station 1, (b) station 2, (c) station 3

4. Conditions de l'expérimentation

L'expérience a été réalisé en laboratoire de toxicologie, dans des conditions in vitro. Les lentilles d'eau *Lemna minor* utilisées dans cette étude ont été récoltées de la région d'El taref et ils ont été placés dans les eaux usées pour la réalisation de quatre lots suivants :

Les lots ont été placé comme suite :

Témoin T: *Lemna minor* + Eau distillée.

Station 1 S1 : *Lemna minor* + Eau usée de l'amont d'Oued Mellegue.

Station 2 S2 : *Lemna minor* + Eau usée du centre d'Oued Mellegue.

Station 3 S3 : *Lemna minor* + Eau usée de l'Aval d'Oued Mellegue.

Les plantes ont été séjourné pendant 15 jours avant la réalisation des dosages biochimiques : protéines, clorophylle a, chlorophylle b, chlorophylle a+b et sucre soluble.

Nous avons effectué trois répétitions pour les protéines, les sucres solubles et cinq répétitions pour la chlorophylle a, b et a+b. Qui ont été mesuré selon trois dates :

- La première date: après 15 jours de traitement.
- La deuxième date: après 20 jours de traitement.
- La troisième date: après 25 jours de traitement.

5. Solution de Knop

Nous avons utilisé la solution de Knop pour cultiver la plante *Lemna minor* dans des condition in vitro.

Cette dernière a été inventé par le chimiste allemand Wilhelm Knop (1817-1891). Il contient les 4 éléments dont les symboles chimiques mis à la suite forment le nom de celui-ci:

K (potassium), N (azote), O (oxygène), P (phosphore).

Le liquide de Knop est un engrais mis au point pour obtenir une croissance optimale des plantes en laboratoire. Il est composé de divers sels minéraux dissous dans l'eau : nitrate de calcium, nitrate de potassium, sulfate de magnésium, phosphate mono potassique, sulfate ferrique. **(Bruchhauser, 2010)**

Pour préparer 1 L de solution de knop, on ajoute les ingrédients suivants à 1 L d'eau distillée.

Tableau 03: Composition chimique de solution de knop, utilisé pour la culture de *Lemna minor*.

Composition chimique	**Concentration g/L**
nitrate de calcium (CaNO3)	1
nitrate de potassium (KNO3)	0.25
sulfate de magnésium (MgSO4)	0.25
phosphate mono potassique ou dihydrogénophosphate (KH2 PO4)	0.25
sulfate ferrique (FeSO4)	0.001

- ✓ Les substances utilisées doivent être de qualité réactif. Le liquide est agité jusqu'à dissolution complète du contenu, Il existe différentes sortes de liquides de Knop. Ces différentes solutions ne possèdent pas de source de carbone. Elles permettent d'expérimenter les exigences des plantes en faveur de tel ou tel élément non carbonaté.

6. Méthode de dosage

6.1. Extraction et Dosage de la Chlorophylle

Nous avons utilisé la méthode établie par Holden (1965) pour l'extraction de la chlorophylle. Le traitement de tous les échantillons se fait comme suit :

On pèse 100 mg des feuilles/racines de *lemna minor* sont broyés dans un mortier avec 2.5 ml d'acétone à 80% (CH_3COCH_3) et une pincée de carbonate de calcium ($CaCO_3$).

Après broyage total, la solution est filtrée et conservée à l'obscurité dans des boites noires pour éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière. Le dosage se fait par un prélèvement de 2.5 ml de la solution dans la cuve à spectromètre, ce dernier est de type «Spectrophotomètre Jenway 6300».

Les échantillons sont ensuite analysés par spectrophotométrie à deux longueurs d'onde différentes (645 et 663 nm) en utilisant l'acétone 80% comme blanc.

Le contenu en chlorophylle (a et b et a+b) a été déterminé à l'aide des équations suivantes. **(Bassa et *al*., 2012)**

Chl a = 12,7 (DO663)-2,69(DO645)

Chl b = 22,9 (DO645)-4,86(DO663)

Chl a+ b = 8,02 (DO663) + 20,20 (DO645)

6.2. Dosage des protéines totales:

La méthode utilisée pour le dosage des protéines totales est celle de Bradford **(Bradford, 1976)** qui utilise la BSA (Sérum Albumine Bovine) comme standard. C'est une méthode colorimétrique basée sur l'absorption du colorant Bleu de Coomassie G250, en milieu acide, sur les groupements basiques et/ou aromatiques des protéines et une mesure au (spectrophotomètre à 595 nm).

Le calcul des concentrations se fait par l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisé à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf.

Le dosage des protéines est effectué avec une fraction aliquote de 100µl.

Les densités optiques sont mesurées grâce à un spectrophotomètre **(Jenway-6300)**.

La quantité des protéines a été déterminée à partir de la formule :

$$Y = b + a X$$

Y : densité optique

X : quantité de protéines en (µg/mg MF).

(a et b voire les annexes).

6.3 .Dosage des sucres solubles

Le dosage des sucres est réalisé selon la méthode de **(Schields et Burnet, 1960)** qui utilise l'anthrone en milieu sulfurique comme réactif (150 mg d'anthrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose à 50 µg/ml.

Nous prélevons 100 mg de matière végétale fraiche. On ajoute ensuite 3 ml d'éthanol à 80%, on laisse le tout à une température ambiante pendant 48h environ. On chauffe au bain marie à 70°C, pendant 30 min, et on prélève 2 ml d'extrait pour le dosage.

Le dosage des sucres totaux racinaires est effectué dans une fraction aliquote (100 µl). Les absorbances sont mesurées grâce à un spectrophotomètre (Jenway-6300) et la lecture est réalisée à une longueur d'onde de 585 nm.

Chapitre 02

resultats et discussion

1 .Résultats

Dans cette partie nous avons représenté les principaux résultats obtenus concernant les essais réalisés au laboratoire, sur les paramètres biochimiques (les protéines, La chlorophylle a, b et a+b et les sucres solubles).

1.1.La chlorophylle a

La figure (9), illustre les effets des eaux usées sur la teneur en chlorophylle a chez «*Lemna minor*». l'analyse de la variance ANOVA à deux critères de classification, à montrer qu'après 15 jours de traitement on remarque une augmentation non significative de station 1et 2 par rapport au témoin, et une diminution non significative de station 3 par rapport au témoin ;Après 20 jours de traitement, on note une diminution non significative de station 1 et significative de station 3 par rapport au témoin, et une augmentation hautement significative de station 2 par rapport au témoin; Après 25 jours de traitement, on note une diminution non significative de station 1 et 2 par rapport au témoin et une augmentation très hautement significative de station 3 par rapport au témoin.

Le test T de Student entre le témoin et les trois stations donne des différences significatives à très hautement significatives.

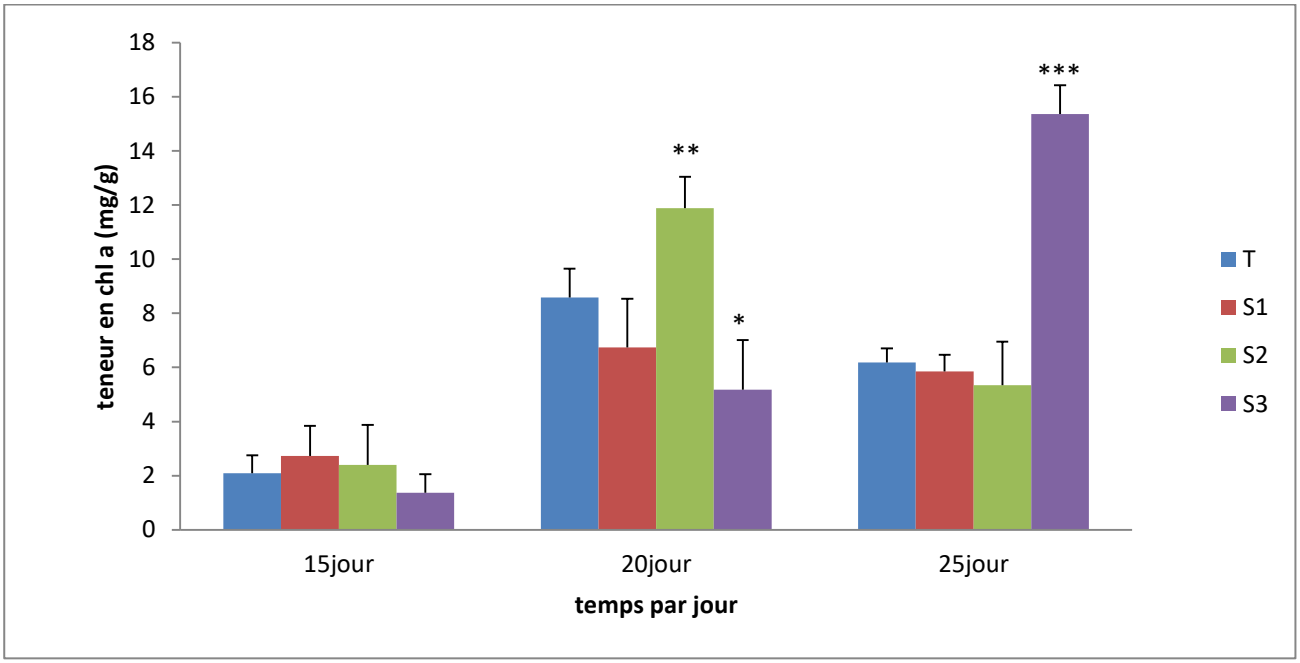


Figure 09: les effets des eaux usées sur la teneur en chlorophylle a en (mg /g) chez les feuilles de *lemna minor* en fonction du temps.

- (P>0,05) non significative.
- * (P ≤ 0,05) significative.
- ** (P ≤ 0,005) hautement significative.
- *** (P ≤ 0,0005) très hautement significative.

Tableau4 : Analyse de la variance à deux critères de classification du taux de chlorophylle a en (mg/g de PF) chez les feuilles de *Lemnaminor*placées dans des eaux usées

Source	Dl	SC ajust	CM ajust	F	P
site	**3**	**42,749**	**14,250**	**9,64**	**0,000**
temps	**2**	**479,300**	**239,650**	**162,18**	**0,000**
Site*temps	**6**	**431,551**	**71,925**	**48,67**	**0,000**
Erreur	**48**	**70,930**	**1,478**	**/**	**/**
Total	**59**	**/**	**/**	**/**	**/**

- **Dl :** degré de liberté ; **SCE :** somme des carrés des écarts ; **CM :** carré moyen ; **F :** test de Fisher; **P :** seuil de signification

1.2 .La chlorophylle b

La figure (10), présente les effets des eaux usées sur la teneur en chlorophylle b chez «*Lemna minor* ».Après 15 jours de traitement on remarque une diminution non significative de station 1, significative de station 2 et hautement significative de station 3 par rapport au témoin; Après 20 jours de traitement, on note une augmentation très hautement significative de station 1, 2 et 3 par rapport au témoin ; après 25 jours de traitement, on note une diminution non significative de station 1 et 2 par rapport au témoin, et une augmentation non significative de station 3 par rapport au témoin. Ceci est confirmé après l'analyse de la variance ANOVA à deux critères de classification.

Le test T de Student entre le témoin et les trois stations donne des différences significatives à très hautement significatives.

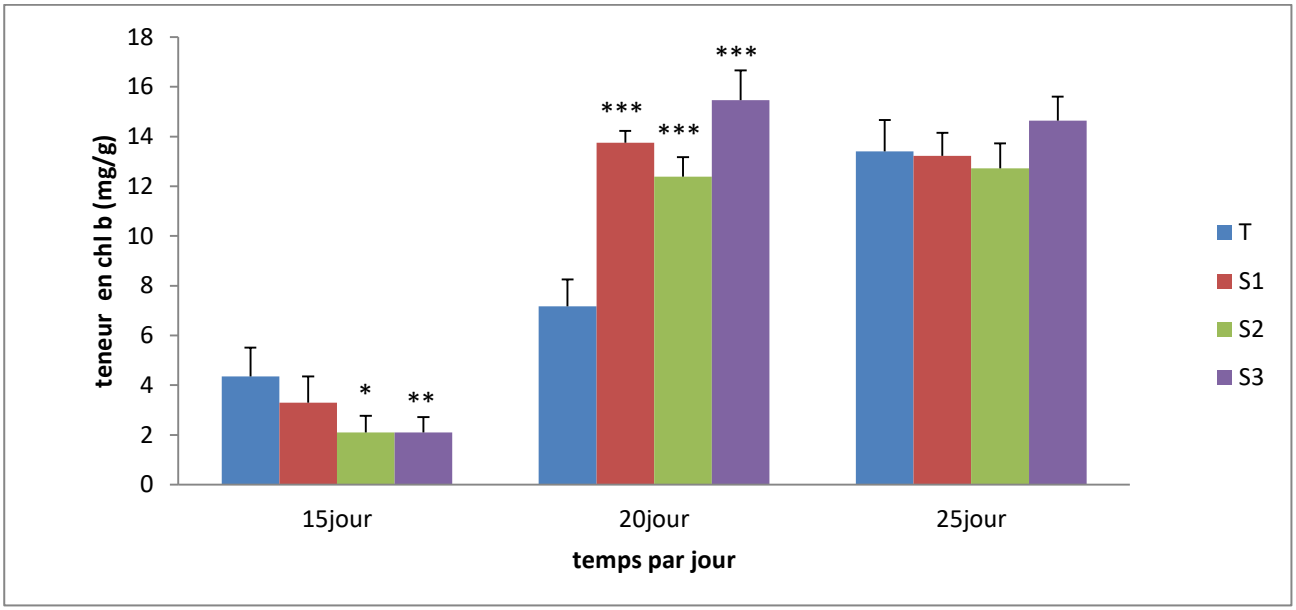


Figure 10: Variation des effets des eaux usées sur la teneur en chlorophylle b en (mg /g) chez les feuilles de *lemna minor* en fonction du temps.

- (P>0,05) non significative.
- * (P ≤ 0,05) significative.
- ** (P ≤ 0,005) hautement significative.
- *** (P ≤ 0,0005) très hautement significative.

Tableau 5 : Analyse de la variance à deux critères de classification du taux dechlorophylles b totales en (mg/g de PF) chez les feuille de *Lemna minor* placées dans des eaux usées

Source	DL	SC ajust	CM ajust	F	P
site	**3**	**52,17**	**17,39**	**18,67**	**0,000**
temps	**2**	**1318,91**	**659,46**	**707,83**	**0,000**
Site*temps	**6**	**167,58**	**27,93**	**29,98**	**0,000**
Erreur	**48**	**44,72**	**0,93**	**/**	**/**
Total	**59**	**/**	**/**	**/**	**/**

- **DL :** degré de liberté ; **SCE :** somme des carrés des écarts ; **CM :** carré moyen ; **F :** test de Fisher ; **P :** seuil de signification.

1.3 .Les chlorophylles a+b

La figure (11), illustre les effets des eaux usées sur la teneur en chlorophylle a+b chez «*Lemna minor* ».Après 15 jours de traitement on remarque une diminution non significative de station 1 par rapport au témoin, une augmentation très hautement significative de station 2 par rapport au témoin, et une diminution hautement significative de station 3 par rapport au témoin; Après 20 jours de traitement. On note une diminution non significative de station 1 par rapport au témoin, et une augmentation très hautement significative de station 2 et 3 par rapport au témoin ; après 25 jours on remarque une diminution hautement significative de station 1 par rapport au témoin, et une diminution non significative de station 2 et 3 par rapport au témoin. Ceci est confirmé après l'analyse de la variance ANOVA à deux critères de classification.

Le test T de Student entre le témoin et les trois stations donne des différences significatives et très hautement significatives.

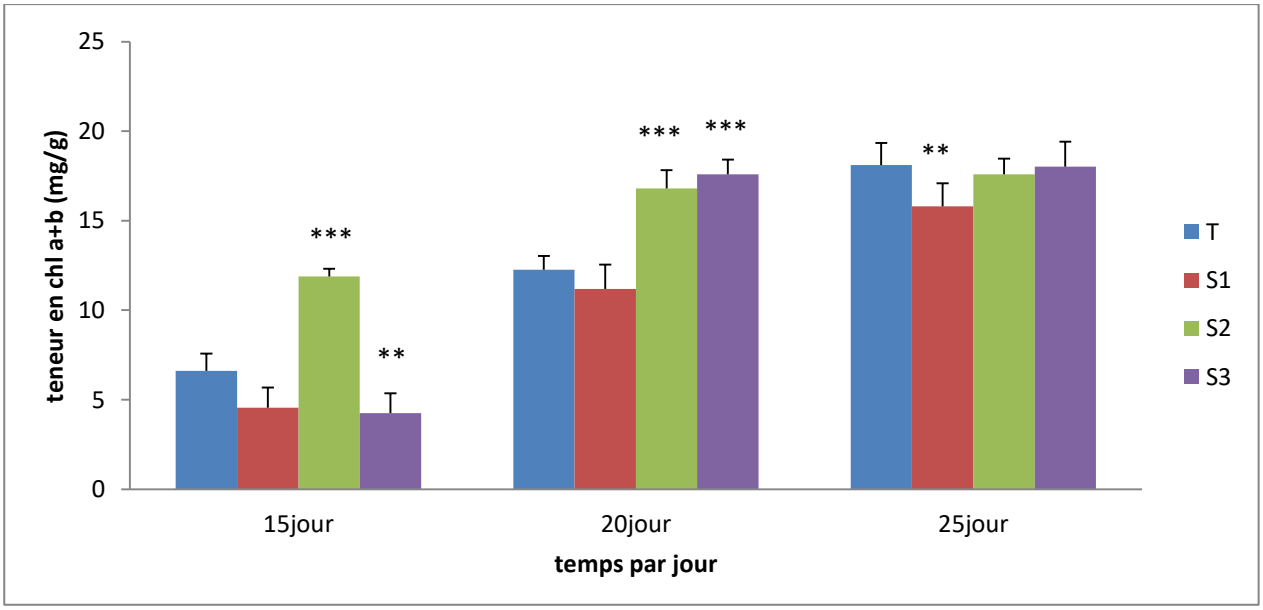


Figure 11: les effets des eaux usées sur la teneur en chlorophylle a+b en (mg /g) chez les feuilles de *lemna minor* en fonction du temps.

- (P>0,05) non significative.
- * (P ≤ 0,05) significative.
- ** (P ≤ 0,005) hautement significative.
- *** (P ≤ 0,0005) très hautement significative.

Tableau 6: Analyse de la variance à deux critères de classification du taux de chlorophylles a+b en (µg/mg de PF) chez les feuille de *Lemna minor* placées dans des eaux usées

Source	DL	SC ajust	CM ajust	F	P
site	**3**	**187,84**	**62,61**	**54,95**	**0,000**
temps	**2**	**1186,66**	**593,33**	**520,67**	**0,000**
Site*temps	**6**	**169,72**	**28,29**	**24,82**	**0,000**
Erreur	**48**	**54,70**	**1,14**	/	/
Total	**59**	/	/	/	/

- **Dl :** degré de liberté ; **SCE :** somme des carrés des écarts ; **CM :** carré moyen ; **F :** test de Fisher ; **P :** seuil de signification

1.4 . Les protéines totales :

La figure (12), illustre les effets des eaux usées sur la teneur en protéine totale chez la lentille d'eau *Lemna minor*, l'analyse de la variance ANOVA à deux critères de classification , montre une augmentation de la production des protéines totales non significative de station 1 par rapport au témoin, et une augmentation significative de station 2 et 3 par rapport au témoin , après 15 jours ; après 20 jours de traitement, on remarque une augmentation hautement significative de station 1 et 3 par rapport de témoin , et une augmentation non significative de station 2 par rapport au témoin ; Après 25 jours de traitement, on note une diminution non significative de station 1, 2 et 3 par rapport au témoin.

Le test T de Student entre le témoin et les trois stations donne des différences significatives à hautement significatives.

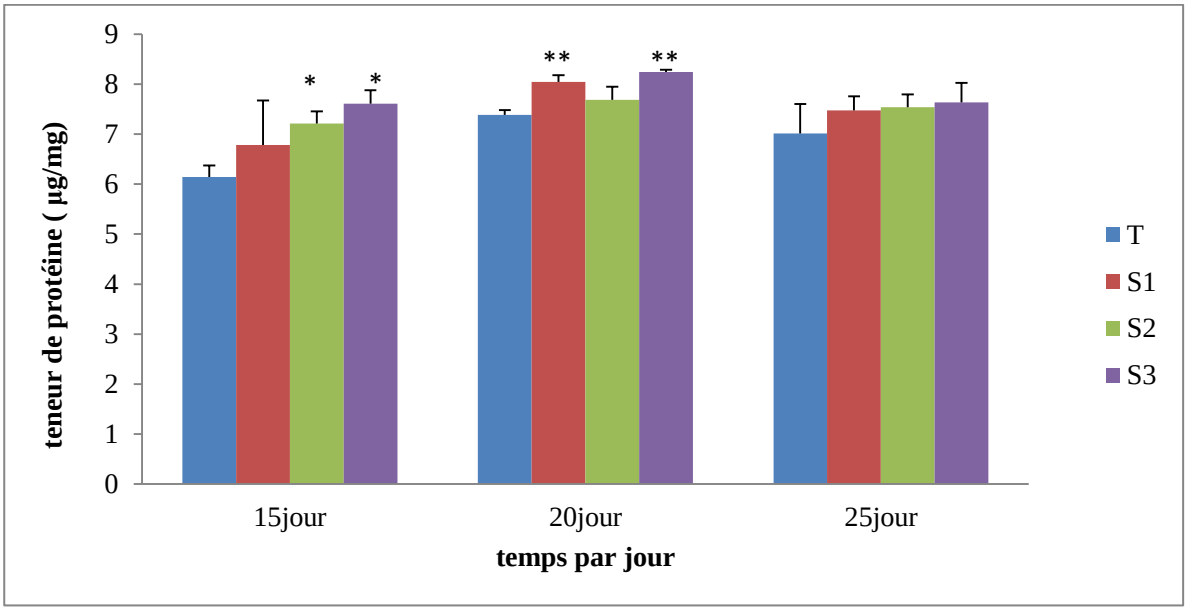


Figure 12: les effets des eaux usées sur la teneur en protéines totale (µg /mg) chez la lentille d'eau *Lemna minor* en fonction du temps.

- (P>0,05) non significative.
- * (P ≤ 0,05) significative.
- ** (P ≤ 0,005) hautement significative.
- *** (P ≤ 0,0005) très hautement significative.

Tableau 7: Analyse de la variance à deux critères de classification du taux de protéines totales en (µg/mg de PF) chez les feuille de *Lemna minor* placées dans des eaux usées.

Source	DL	SC ajust	CM ajust	F	P
Site	**3**	**4,4708**	**1,4903**	**10,64**	**0,000**
temps	**2**	**4,9019**	**2,4509**	**17,51**	**0,000**
Site*temps	**6**	**1,0601**	**0,1767**	**1,26**	**0,311**
Erreur	**24**	**3,3603**	**0,1400**	**/**	**/**
Total	**35**	**/**	**/**	**/**	**/**

- **Dl :** degré de liberté ; **SCE :** somme des carrés des écarts ; **CM :** carré moyen ; **F :** test de Fisher **; P :** seuil de signification.

1.5 . les sucres solubles

La figure (13), illustre les effets des eaux usées sur la teneur en sucres solubles chez la lentille d'eau *Lemna minor*, l'analyse de la variance ANOVA à deux critère de classification, montre une augmentation de la production des sucres solubles significative de station 1 et hautement significative de station 2 et 3 par rapport au témoin , après 15 jours ; après 20 jours de traitement, on remarque une augmentation très hautement significative de station 1, hautement significative de station 2 et significative de station 3 par rapport au témoin; Après 25 jours de traitement, on note une augmentation très hautement significative de station 1, hautement significative de station 2 par rapport au témoin, et une diminution très hautement significative de station 3 par rapport au témoin.

Le test T de Student entre le témoin et les trois stations donne des différences significatives à très hautement significatives.

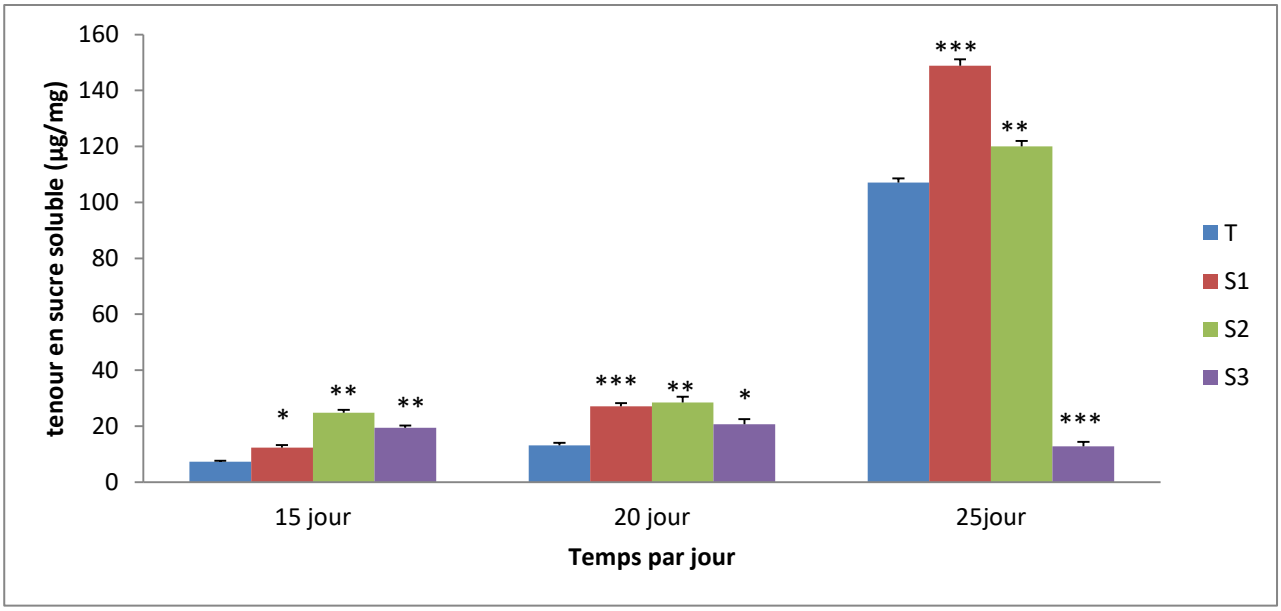


Figure 13 :les effets des eaux usées sur la teneur en sucre soluble (µg/mg) chez la lentille d'eau *Lamna minor* en fonction de temps.

- (P>0,05) non significative.
- * (P≤0,05) significative.
- ** (P ≤ 0,005) hautement significative.
- *** (P ≤ 0,0005) très hautement significative.

Tableau 8 : Analyse de la variance à deux critères de classification du taux de sucre soluble en (µg/mg de PF) chez les feuille de *Lemna minor* placées dans des eaux usées.

Source	DL	SC ajust	CM ajust	F	P
site	**3**	**11098,6**	**3699,5**	**1696,61**	**0,000**
temps	**2**	**48925,9**	**24463,0**	**$1,1^{E}$+04**	**0,000**
Site*temps	**6**	**21075,6**	**3512,6**	**1610,87**	**0,000**
Erreur	**24**	**52,3**	**2,2**	**/**	**/**
Total	**35**	**/**	**/**	**/**	**/**

- **DL :** degré de liberté ; **SC :** somme des carrés des écarts ; **CM :** carré moyen ; **F :** test de Fisher **; P :** seuil de signification.

2 .Discussion

Dans cette partie de notre travail, nous avons étudié la réponse biologique de notre modèle végétal à savoir *Lemna minor* vis-à-vis des eaux usées d'oued Mellague.

Nous avons déterminé les effets des eaux usées sur : la biochimie de la plante aquatique *Lemna minor* à savoir : la teneur en protéines totales, la physiologie de macrophyte à savoir la chlorophylle a, b et a+b , et la teneur en sucre soluble durant trois durées de traitement 15, 20 et 25 jours.

2.1 .Dosage de la chlorophylle

Les résultats obtenus montrent une augmentation du taux de chlorophylle a, b et a+b chez la plante exposées à l'eau pollué, cette augmentation pourrait traduire une stimulation de la photosynthèse et peut être également expliquée, par les besoins en précurseurs pour la synthèse de certains polypeptides spécifiques (phytochélatines) via la photo respiration.**(Robert et Roland, 1998 ; Lidia et *al*., 2004)**

Aussi ces résultats obtenus concordent beaucoup plus avec ceux de **Harrieche (2004),** qui rapporte un effet stimulateur du cadmium sur la teneur en chlorophylle.

La teneur en chlorophylle est un paramètre qui est sensible à la toxicité des métaux lourds. **(Gupta et Chandra, 1996)**

Nous avons procédé au dosage des teneurs moyennes en chlorophylle a, b et (a+b) paramètres susceptibles de nous indiquer un éventuel stress, car considérées comme bio-marqueur de la toxicité des végétaux puisque des corrélations entre les densités cellulaires et les paramètres de la fluorescence photosynthétiques ont prouvé que ces dernières pouvaient être considérées comme bio-marqueurs de la toxicité, dans le cadre de la pollution environnementale. **(Dewez et *al*, 2007)**

Les auteurs suivants **Muhittin Dogan (2009), Saygideger et Dogan (2004)** et **Saygideger (2004)** ont noté une réduction dose réponse des teneurs en chlorophylle (a, b et a+b) respectivement chez *Elodea canadensis* et *Lemna minor*, exposées à différentes concentrations de plomb.

Une autre étude selon **Elzbieta Kielak (2011)** sur la phytotoxicité d'un herbicide Roundup Ultra 360 SL sur la lentille d'eau *Lemna minor*, a montré une diminution de taux de chlorophylle a, b et a+b, en augmentant la dose de l'herbicide. La réduction de la teneur en chlorophylle a été observée chez la plante *Lemna minor* étudiées après 25 jours de traitement à l'eau usée.

2.2.Dosage des Protéines

Les résultats des dosages des protéines totales *Lemna minor* mettent en évidence, une augmentation très significative des taux de protéines, qui laisse suggérer une disponibilité des protéines dans les tissus foliaires Pouvant essentiellement être utilisé dans le développement des processus de reproduction.**(Tlidjen, 2014)**

De ce fait, la stimulation du taux des protéines enregistrée au niveau de la plante, traduit l'existence des protéines synthétisées lors du stress généré par les eaux usées et/ou métaux lourds existant éventuellement dans les milieux hydriques expérimentaux.

Cette augmentation des protéines s'expliquerait aussi par le fait que la présence des polluants qui stimulent la synthèse protéique de nombreuses enzymes entre autres celles intervenant dans la détoxification, ce qui est en parfait accord avec les résultats de **Stolt (2003)** qui indiquent que l'exposition des plantes à différentes concentrations de cadmium a tendance de provoquer une augmentation de la synthèse des protéines particulièrement des phytochélatines dont le rôle est la détoxification.

Nos résultats concordent aussi avec ceux de **Meksem (2007)** sur les deux variétés de blé dur (GTA dur et Vitrons) après traitement au FL SC et Tilt 250 EC deux fongicides, ou ils ont mis en évidence une augmentation significative de la teneur en protéines, comparativement au témoin et ceci avec un effet dose réponse.

De nombreuses études ont montré que la teneur en protéines chez les macrophytes est diminué par l'accumulation de Pb dans des milieux aquatiques.**(Gupta et *al.*,1996; Mohan et Hosetti, 1997)**

La réduction de la teneur en protéines a été observée chez la plante *Lemna minor* étudiée après 25 jours de traitement à l'eau usée.

2.3. dosage des sucres solubles

Pour la teneur en sucres solubles dans les racines et les feuilles, les plantes irriguées avec les eaux usées traités ont enregistré des teneurs plus importantes que les plantes témoins. L'accumulation des sucres solubles est un moyen adopté par les plantes à fin de résister au stress abiotique. **(Bajji et al., 1998**)

Selon **Binet (1989)** l'enrichissement en sucres solubles outre son indice osmotique pourrait protéger les membranes de la dessiccation. Il a été en effet montré que certains sucres comme le tréhalose, en se liant aux lipides membranaires pourrait stabiliser la structure des membranes pendant la dessiccation.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de **(Trad Raïs, 2009)** qui affirme l'accumulation des sucres solubles chez plusieurs variétés d'oliviers irriguées par les eaux usées traitées et avec ceux de **(Rather, 1984)** qui a travaillé sur d'autres espèces comme l'haricot et le riz. Ces résultats sont conformes à ceux de **(Bekhouche et Brinis, 2008)** qui montrent que l'irrigation avec des eaux usées provoque une augmentation des sucres solubles chez plusieurs variétés de blé.

CONCLUSION

Les scientifiques sont toujours à la recherche du meilleur moyen permettant l'épuration des eaux usées avec le minimum de dépense et le maximum d'efficacité. La phytoépuration s'avère un moyen d'épuration écologique est avantageux à plus d'un titre.

D'un autre côté, l'utilisation des milieux humides artificiels n 'engendre que peu ou pas de production de boues. Enfin, ce genre d'unité de traitement augmente la superficie des milieux humides disponibles pour la faune et la flore, tout en rendant l'aspect d'une station de traitement beaucoup plus esthétique et socialement acceptable.

Dans notre travail nous avons utilisé une plante macrophyte : *lemna minor* pour l'épuration des eaux usées, les résultats obtenus ont montré l'effets des eaux usées sur cette plante dans la phytoépuration.

Nous avons travaillé avec les eaux usées de la ville de Tébessa notamment la région d'El Aouinet (Oued Mellague).

Les effets de ces eaux polluées se manifestent par une perturbation au niveau du système métabolique des lentilles d'eau *lemna minor* conduisant à des troubles au niveau des fonctions physiologiques. Différentes analyses telles que le dosage des chlorophylles a , b et a+b , protéines totale et sucrés solubles sur cette plante.

Sur le plan biochimique , Les résultats obtenus semblent converger vers la mise en évidence du caractère toxique oxydatif des polluants présents dans les eaux usées, à travers l'étude des métabolites .

Nous avons noté les modifications métaboliques suivantes :

• Une teneur inchangée par rapport au témoin de la chlorophylle (a, b et a+b) à 15 et 20 jours de traitement. Par contre après 25 jours nous remarquons qu'il n'y a pas une stimulation significative de la teneur de la chlorophylle.

• Ainsi une augmentation significative des protéines totaux et de la teneur en sucre soluble de la plante.

A

-**Asada K, 2000**. The water- water cycle as alternative photon and electronsinks.

Philosophical Transactions o f the Royal Society B: Biological Sciences 355(1402), Pp : 1419-1431.

- **Asada K, 2006.** Production and Scavenging of ReactiveOxygenSpecies in

Chloroplasts and Theirfunctions. Plant Physiology 141(2), Pp : 391-396.

members in tomato. Plant CellPhysiology 53, Pp : 1583-1595.

B

-**Baker A., Graham I.A., H oldsworth M ., Smith S.M. et TheodoulouF.L. ,2006.**Chewing the fat: P -oxidation in signalling and development. Trends in Plant Science 11(3), Pp : 124-132.

-**B en ah m ed F atih a, 2010**. Stress oxydatif chez des plantules de Vicia faba L. soumises à différentes contraintes abiotiques (stress salin, stress hydrique et stress aux métaux lourds) ; Mémoire en vue de l ’obtention du diplôme de M agister en Biologie.

-**Bonnefont-Rousselot D., Therond P. et. Delattre J, 2003**. Radicaux libres et antioxydants. Ed :Flammarion Médecine-Sciences. Pp : 59-81

- **Bouffard V., 2000.** Milieux humides artificiels pour l’amélioration de l’efficacité de traitement des eaux usées domestiques d’une petite municipalité. Mémoire du grade de maitre ès sciences. Université de Sherbrook. 150p

- **Bonnefoy C, Guilletet F al.2005,** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires, édition DOIN, 2005, pp 62-72

- **Bradford MM, 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgramquantities of proteinutilizing the principle of protein-dyebinding. Anal Biochem. Pp : 248-254.

- Bruchhauser, 2010. Cellule, ADN et unité du vivant : Cours à l'usage exclusif des élèves de sa classe de seconde 1 dans le cadre de la session de rattrapage. Pp : 2.

C

-Cauzzi N, 2007. Evaluation de l'éco-compatibilité de sédiments contaminés, traités et non traités par un procédé physico-chimique, dans le cadre d'un scénario de dépôt en gravière - Étude en microcosmes aquatiques. Thèse INSA de Lyon - Spécialité Sciences et Techniques du Déchet au LSE de l'ENTPE. Villeurbanne: INSA de Lyon, 341p.

-Céline Haton, 2005. Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéialeintestinale ; Thèse de doctorat de l'Université Paris VI Spécialité Physiologie et Physiopathologie .168p

- **Corpas F .J., Barroso J.B . et delRio L .A , 2001.** Peroxisom es as a source o freactiveoxygenspecies and nitricoxide signal molecules in plant cells. Trends in Plant Science 6(4), Pp : 145-150.

-Coulibaly K.2004-2005. thèse de doctorat, université de Bamako (Mali).

D

-Dewez D., Didur O., Vincent-Heroux J., Popovic R., 2007. Validation o fphotosynthetic-fluorescence parameters as biomarkers or isoproturontoxiceffect on algascenedesmusobliquus.Department of Chemistry, EnviromentalToxicologyResearch Center. TOXEN, 2101, Montreal, Quebec, Canada.

-Del Pilar M ,2004. 1794-1237, Février 2004.

-Dr. CHAOUKI, 2017.thèse de doctorat,université deKasdiMerbah(Ouargla).

-**Djermakoye H. ,2004-2005.** thèse de doctorat, université de Bamako (Mali).

E

-**Edreva A., 2005.**Generation and scavenging of reactiveoxygenspecies in chloroplasts:asubmolecularapproach. Agriculture, Ecosystems and Environment 106(2-3), Pp :119-133.

-**El_zbietaKielak, Cezary Sem pruch , HalinaMioduszewska , Jozef Klocek , BogumilLeszczyn' ski., 2011**. Phytotoxicity of Roundup Ultra 360 SL in aquaticecosystems: Biochemicalevaluationwithduckweed (Lemnaminor L.) as a model plant. Contents listsavailableatScienceDirect . doi:10.1016/j.pestbp.

F

-**Favier A., 2003.** Le stress oxydant. Actualité chimique , Pp : 108-115.

-**Filipe Gam a, 2010.** Les glutarédoxines : de la réduction des peroxyrédoxines de type II aux systèmes d'assemblage des centres fer-soufre ; Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy I en Biologie Végétale et Forestière.196p.

- **Foerster E ., Fahrenkemper T ., Rabe U., Graf P. et Sies H ., 1981.**Peroxisomalfattyacidoxidation as detected by H2O2 production in intact perfused rat liver. Biochemestry Journal 196(3), Pp : 705- 712

-**Foyer C .H. et Noctor G ., 2003**. Redox sensing and signallingassociatedwithreactiveoxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria." PhysiologiaPlantarum. 119,Pp :355-364.

-Françios A , Rousselle J, Nicolas L, 2005.hydrogéologie, cheminement de l'eau, presses internationales polytéchnique, pp 1, 2,5

G

-Google earth source 2019

-Gupta P, C h an d ra P., 1996. Response of cadmium to Ceratophyllumdemersum L., a rootlesssubmerged plant. WasteManag 16. Doi : 10. 1016/S0956- 053X(96)00053-0. Pp : 335- 337

H

-**Harrieche O., 2004.** Impact du cadmium et de l'interaction cadmium-calcium sur la germination et la croissance du blé dur (TriticumdurumDesf., variété Vitron). Effets sur la respiration des racines. Mémoire de Magistère. Université d'Annaba. 79p.

- Hebert S et LegreS, 2000. Suivi de la qualité de l'eau des rivières et petits cours d'eau,Direction du suivi de l'état de l'environnement, Ministère de l'Environnement Gouvernement du Québec, Octobre 2000, pp 05.

- Horemans, N., C.H. Foyer et H. Asard , 2000. « Transport and action of ascorbateat the plant plasma membrane ». Trends Plant Scï., vol. 5,263-267

I

- **Isabelle G et al,2013,** critères des eaux de surface, 3eme édition, Québec, pp 18-21

K

- Kern I. &Idler C. 1999,Treatment of domestic and agricultural wastewater by reedbedsystems. Ecological Engineering, 12, 13-25.

- Kengne I.N.M., 2000. Evaluation d'une station de lagunage à macrophytes à Yaoundé : performances épuratoires, développement et biocontrôle des diptères Culicidae.Thèse doctorat 3e cycle, Fac Sci. UYI.

-Krell A. 2006,Salt stress tolerance in the psychrophilicdiaomFragilariopsiscylindrus, University of Bremen, 2006, pp 120

L

-Ladlani I,2007.these de 2 Eme cycle, université El Hadj Lakhdar, Batna (Algérie), pp 31-32

-Lidia, B., Vysotskaya, N., Tatyana, N., Leila, Tim ergalina, V., Aleksandr, Dedov, YU., and Stanislqv., 2004. Effect of partial root excision on transpiration, roothydrolic conductance and leafgrowth in wheatseedlings. Plant Physiologie andBiochemistry l 42(3): 251-255.

M

- Michel Vincent, 2006. Etudes des effets toxiques des ions métalliques du cadmium sur la formation et l'activité des photosystèmes chez l'algue unicellulaire chlamydomonasreinhardtii; Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en chimie.134p

-M uhittinDogan, SaadetDemirorsSaygideger, UgurColak, 2009. Effect of Lead Toxicity on AquaticMacrophyteElodeacanadensisMichx. _ Springer Science+Business Media, LLC Bull Environ ContamToxicol. 83:249-254

-M ohan BS et Hosetti BB., 1997. Potentialphytotoxicity of lead and cadmium to Lemnaminorgrown in sewagestabilization pond. Environ Pollut 9:233-238

-**M ishra, S., Srivastava, S., Trip ath i, R. D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V., P rasad, M. N.V. 2006.** Phytochelatinsynthesis and response of antioxidantsduring cadmium stress in BacopamonnieriL. Plant Physiol. Bioch. 44; 25-37.

-**Meksem, L, Rouabhi, R, Djebar-Berrebbah, H. and Djebar, M. R., 2007.** The impact of propiconazole (Tilt 250 EC) on the growth and the breathing of hard wheatisolatedroots (Triticumdurum, GTA and Vitronvarieties).African Journal of Agricultural Research Vol. 2 (8), pp. 370-373

N

-**Noctor G., A risi A., Jouanin L., KunertK., Rennenberg H. et Foyer C.,1998.**Review article. Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stresstoleranceexplored in transformed plants." Journal of ExperimentalBotany 49(321), 623 -647

-**Nyathi Y. et Baker A., 2006.** Plant peroxisomes as a source o fsignallingmolecules." Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - MolecularCellResearch 1763(12), 1478-1495.

O

- **Oueslati M.A., M. Haddad, Y.Charbonnel, 2000.** Étude physico-chimique deseaux usées domestiques traitées par des végétaux aquatiques : Premiére expérience Tunisienne

P

- **Parent C., C apelli N. et Dat J., 2008.** Formes réactives de l ’oxygène, stress et mortcellulaire chez les plantes. C. R. Biologies 331, 255 - 261

- **Peter H, Gleick S et Palaniappan M, 2010**,Peak water limits to freshwaterwithdrawal and use, Proceedings of the National Academy of Science, 11155–11162.

-Pincemail J., Meurisse M ., Limet R. et Defraigne J.O ., 1999. Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine MEDISPHERE, 1-4.

- Pourrut Bertrand , 2008. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, Viciafaba ; Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse.297p.

- Parent C., Capelli N. et Dat J., 2008. Formes réactives de l 'oxygène, stress et mortcellulaire chez les plantes. C. R. Biologies 331, 255 - 261.

R

- **Rodier Jean, 1984.** L 'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Edition Dunod Paris.

-Robert D. et Roland J.C., 1998. Organisation cellulaire : Biologie végétale. Ed Doin, Vol.1, pp 125-345

S

- **Sawyer C et Mccarty S,1967,**Chemistry and sanitary engineering. McGraw Hill, New York, 1967, pp 518

-Saygideger S et Dogan M., 2004. Lead and cadmium accumulation and toxicity in the presence of EDTA in Lemnaminor L. and Ceratophyllumdemersum L. Bull Environ ContamToxicol 73:182-189. doi:10.1007/s00128-004-0411-3

-Saygideger S, Dogan M, Keser G., 2004. Effect of lead and pH on lead uptake, chlorophyll and nitrogen content of Typha latifolia L. and Ceratophyllumdemersum L. Int J Agri Biol 6:168-172.

- **Schields et Burnet, 1960**

-Smirnoff N., Foyer C., Dietz K., Mittler R., Feierabend J., Grace S., Desikan R, Jones M ., Vreeburg R., Logan B .et Jaspers P, 2005. Antioxidants and ReactiveOxygenSpecies in Plants, Blackwellpublishing.

- Spiteller G, 1998. Linoleicacidperoxidation-the dominant lipidperoxidationprocess in lowdensitylipoprotein--and itsrelationship to chronicdiseases. Chemistry and Physics of Lipids 95(2), 105-162.

- Stadtman E R et Levin e R L , 2000. "ProteinOxidation." Annalso f NY Academy of Science 899(1):191-208.

-Stolt J. P., Sneller F. E. C., Bryngelsson T., Lundborg T. And Schat H., 2003. Phytochelatin and Cadmium accumulation in wheat. Environmental and experimental botany,49: 21-28.

-Souguir Dalila, 2009. Modifications métaboliques, moléculaires et génotoxicité induites par le cadmium chez Viciafaba.Thèse de Doctorat en co-tutelle,spécialité de Sciences Biologiques. 239p.

T

- **Tlidjen Sara, 2014.** Impact de xénobiotiques, sur une végétation aquatique, épuratrice des eaux usées : biométrie, aspect biochimique, enzymatique, métabolisme énergétique et cytotoxicité. Thèse de 3ème cycles, UniversiteBadji Mokhtar - Annaba. 200p.

-Tkalec M., VidakovicCifrek Z., Regula I., 1998. The effect of oilindustry «highdensitybrines» on duckweedLemnaminorL. Chemosphere. 13, 2703-2715.

I-les gamme d'étalonnages

I-1- dosage de protéine

La gamme est réalisée à partir d'une solution mère d'albumine de sérum de bœuf (BSA) à 1 mg/ml d'eau distillée.

Tableau 1 : gamme d'étalonnage d'une solution de protéine.

Tubes	**00**	**01**	**02**	**03**	**04**	**05**
Solution d'albumine BSA (µl)	00	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	00
BBC (ml)	4	4	4	4	4	
Λ (nm)	0.0000	0.0060	0.2866	0.5056	0.6840	0.7865

L'équation de régression est :

$C_2 = -0{,}0637048 + 0{,}176729\ C_1$

S = 0,0704177 R-carré = 96,5% R-carré (ajust) = 95,6%

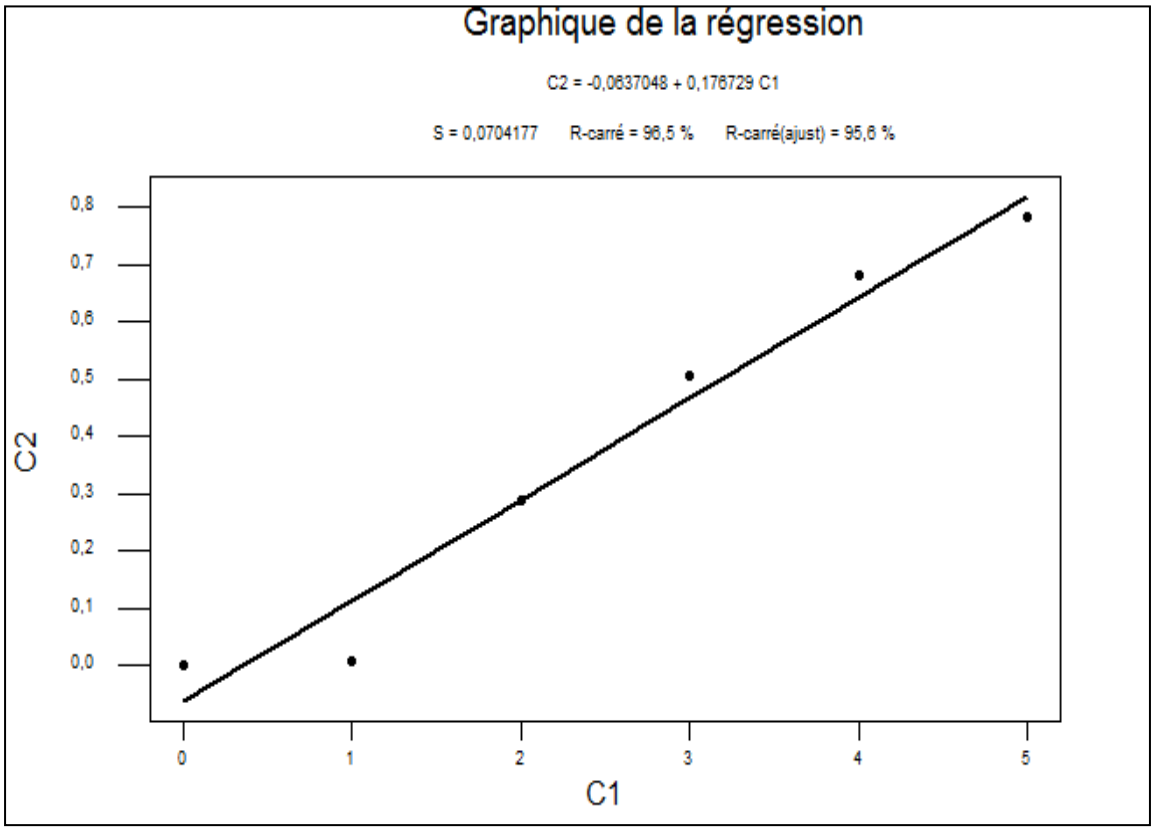


Figure 01 : la courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

I-2- dosage de sucre soluble

La gamme est réalisée à partir d'une solution mère de glucose (SG) à 50 µg/ml.

Tableau 02 : gamme d'étalonnage d'une solution de sucre soluble.

Tube	**00**	**01**	**02**	**03**	**04**	**05**
Solution de glucose (µl)	00	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	00
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4
λ (nm)	0.0000	0.0165	0.0199	0.0219	0.0353	0.0369

L'équation de régression est :

$C_2 = 0{,}0044 + 0{,}00694\ C_1$

S = 0,0043108 R-carré = 91,9% R-carré (ajust) = 89,9%

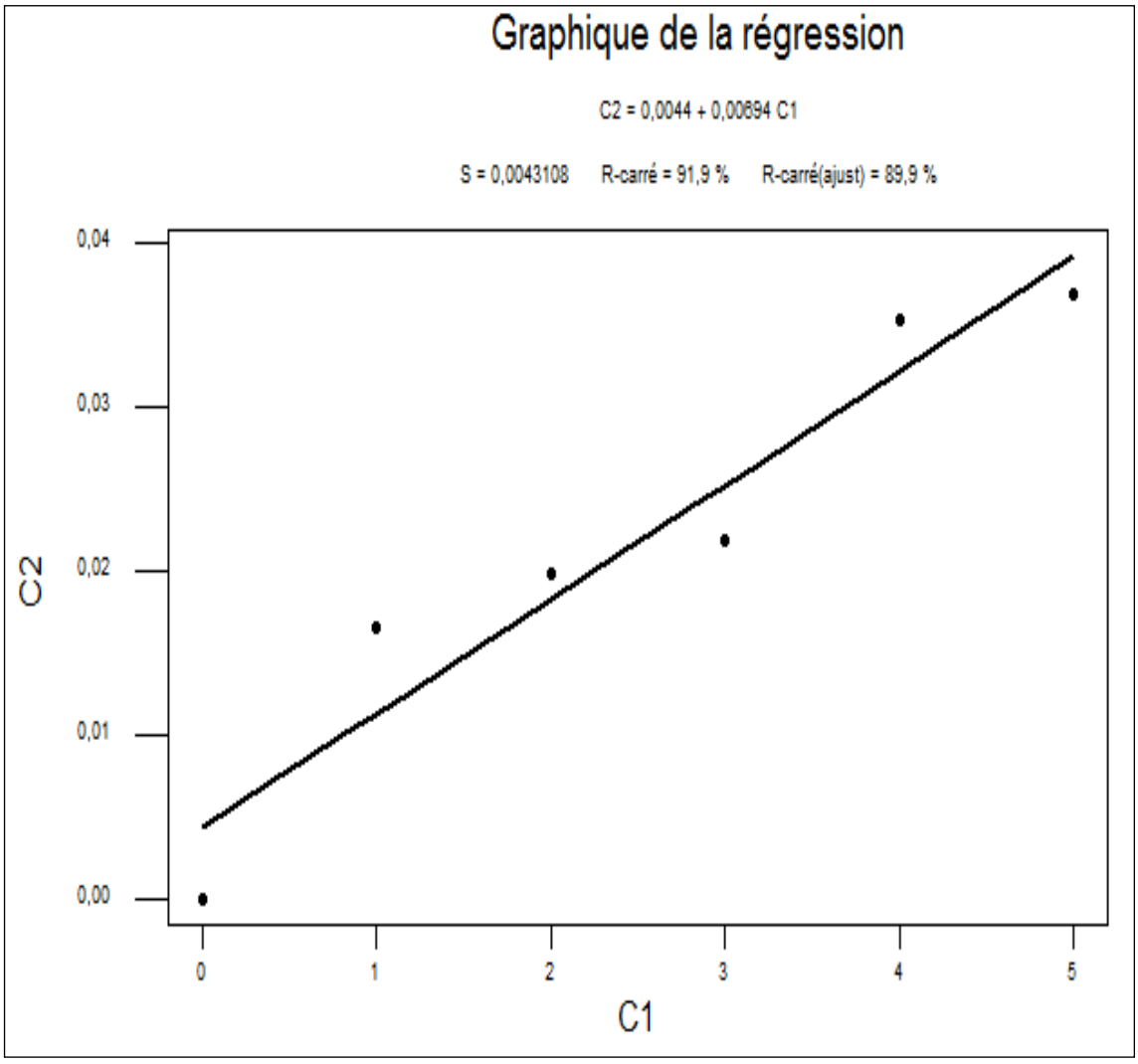


Figure 02 : la courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres solubles