

Université des frères Mentouri, Constantine



N° Ordre :104/DS/2018

N° Série :09/BECO/2018

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Ecologie végétale

Filière : pollution des écosystèmes
Spécialité : Ecologie et écotoxicologie

Thèse de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme
de Doctorat ès Sciences

**Réponses écotoxicologiques aux stress abiotiques induits par
une pollution atmosphérique particulaire chez *Pinus halepensis* Mill.
et *Cupressus sempervirens* L.**

Présentée par Yasmina DELLAA

Jury :

Présidente : BOUDOUR Leila

Encadreur : RAHMOUNE Chabane

Examineurs :

BENALI CHERIF

Nourredine

DJEBBAR Rédha

MENAD Ahmed

TANJIR Laarbi

Prof. Université Mentouri Constantine 1

Prof. Université Mentouri Constantine 1

Prof. Ecole Nationale Polytechnique, Constantine

Prof. Université Baji Mokhtar, Annaba

Prof. Université Mentouri Constantine 1

Prof. Université 20 aout 1956, Skikda

Remerciements

Je tiens tout particulièrement à exprimer un grand MERCI au Pr Rahmoune Chabane, promoteur du présent travail,

Je remercie particulièrement Mme BOUDOUR Leila pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury,

J'adresse mes respectueux remerciements à Messieurs Benali Cherif Nourredine ; Jebbar Rédha ; Menad Ahmed et Tanjir Laarbi pour avoir accepté de corriger, examiner et critiquer le mémoire.

Mes vifs et sincères remerciements vont aux Prs Nathalie Dupuy, Jacky Kister et tous les membres du Laboratoire d'Instrumentation et Sciences Analytiques de l'équipe Methodologie, Traitement de l'Information en Chimie, Aix-Marseille Université.

Mes remerciements les plus distingués à Mrs DHIMET L., doyen de la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'université Mentouri, ROUABAH A. Vice doyen chargé de la Post graduation et la recherche scientifique, BAKA M. chef du département d'écologie et biologie végétale, et HAMIDECHI M. A., pour son aide précieuse.

Je n'oublierai pas de bien remercier Pr BOUCHAAR M. de la faculté de physique et Pr MOUSSER A. de la faculté de Chimie, Université Mentouri.

J'exprime mes profonds remerciements à toute personne ayant intervenu et contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Enfin, je ne saurais finir sans associer à ces remerciements ma famille et tous mes amis ...

Table des matières

| | Page |
|---|----------|
| Table des matières | i |
| ملخص | a |
| Résumé | b |
| Abstract | c |
| Liste des figures | I |
| Liste des tableaux | IV |
| Liste des abréviations | VI |
| Introduction | 1 |
| Synthèse Bibliographique | 5 |
| Chapitre 1 Monographie de <i>Pinus halepensis</i> Mill. et de <i>Cupressus sempervirens</i> L. et leur utilisation dans la bioindication | |
| I.1 Le pin d'Alep ou <i>Pinus halepensis</i> Mill. | 7 |
| I.1.1 Présentation de la famille des <i>Pinaceae</i> | 7 |
| I.1.2. Présentation du genre <i>Pinus</i> | 8 |
| I.1.3. Position systématique de l'espèce <i>Pinus halepensis</i> Mill. | 9 |
| I.1.4. Caractères botaniques et dendrologiques de <i>Pinus halepensis</i> Mill. | 10 |
| I.2. Le cyprès vert ou <i>Cupressus sempervirens</i> L. | 10 |
| I.2.1. Présentation de la famille des <i>Cupressacées</i> | 10 |
| I.2.2. Présentation du Genre de <i>Cupressus sempervirens</i> L. | 10 |
| I.2.3. Position systématique de l'espèce de <i>Cupressus sempervirens</i> L. | 11 |
| I.2.4. Caractères botaniques et dendrométriques du Cyprès | 12 |
| I.3. Présentation des plantes bioindicatrices de pollution | 13 |
| I.3.1. Revue générale | 13 |
| I.3.2. Notion de biosurveillance et concepts | 15 |
| I.3.2.1. Concept de biomarqueur | 15 |
| I.3.2.2. Concept de bioindicateur | 16 |
| I.3.2.3. Concept de biointégrateur | 16 |
| I.3.2.4. concept de bioaccumulateur | 16 |
| I.4. Paramètres biochimiques utilisés dans la bioindication | 17 |
| I.4.1. Les pigments chlorophylliens | 17 |
| I.4.1.1. Structure de la chlorophylle | 17 |
| I.4.1.2. Le chloroplaste | 21 |
| I.4.1.3. Structure du chloroplaste | 21 |
| I.4.1.4. La photosynthèse | 23 |
| I.4.1.5. Effets de la pollution de l'atmosphère sur la chlorophylle | 23 |
| I.4.2. La proline | 24 |
| I.4.2.1. Production Naturelle de la proline | 24 |
| I.4.2.2. Localisation de la Proline dans les plantes | 25 |
| I.4.2.3. Structure de la proline | 26 |
| I.4.3. Les sucres solubles (Glucides) | 27 |

| | | |
|------------|--|----|
| II.1. | L'atmosphère | 30 |
| II.1.1. | Structure de l'atmosphère | 30 |
| II.1.2. | Phases de la matière atmosphérique | 30 |
| II.2. | La pollution de l'atmosphère | 31 |
| II.2.1. | L'air et le vent | 31 |
| II.2.2. | Contamination et pollution de l'atmosphère | 32 |
| II.2.2.1. | Principales espèces polluantes | 33 |
| II.2.3. | Contribution particulière des cimenteries à la pollution atmosphérique | 33 |
| II.2.4. | Notions d'Ecotoxicologie et de dépérissement | 34 |
| II.2.4.1. | L'Ecotoxicologie | 34 |
| II.2.4.2. | Le Dépérissement | 34 |
| II.3. | Principaux contaminants de l'atmosphère | 35 |
| II.3.1. | Les métaux | 35 |
| II.3.1.1. | Généralités | 35 |
| II.3.1.2. | Interférence et toxicité des polluants métalliques avec les plantes | 36 |
| II.3.1.3. | Les métaux lourds dans le ciment | 39 |
| II.3.1.4. | Le cadmium (Cd) | 40 |
| II.3.1.5. | Le chrome (Cr) | 42 |
| II.3.1.6. | Le cuivre (Cu) | 44 |
| II.3.1.7. | Le magnésium (Mg) | 47 |
| II.3.1.8. | Le manganèse (Mn) | 47 |
| II.3.1.9. | Le nickel (Ni) | 49 |
| II.3.1.10. | Le zinc (Zn) | 50 |
| II.3.1.11. | L'aluminium (Al) | 51 |
| II.3.2. | Mécanisme de tolérance des plantes aux métaux | 52 |
| II.4. | Matières particulaires ou poussières (ou aérosols) | 53 |
| II.4.1. | Généralités sur les aérosols | 54 |
| II.4.2. | Origine et sources des matières particulaires | 55 |
| II.4.3. | Fabrication et composition du ciment | 55 |
| II.4.4. | Composition de la poussière de ciment | 57 |
| II.4.5. | Mécanisme de tolérance des plantes aux poussières | 57 |
| II.4.6. | Effets des poussières sur les végétaux | 58 |
| II.5. | Notions de spectroscopies et de rayonnements | 58 |
| II.5.1. | La spectroscopie Raman | 58 |
| II.5.1.1. | Historique | 58 |
| II.5.1.2. | La diffusion Raman | 59 |
| II.5.1.3. | Microscopie confocale | 60 |
| II.5.1.4. | Domaines d'application | 61 |
| II.5.1.5. | Applications en environnement | 62 |
| II.5.2. | Spectroscopie infrarouge | 63 |
| II.5.2.1. | Historique | 63 |
| II.5.2.2. | La transformée de Fourier | 65 |
| II.5.2.3. | Domaines d'application de la spectroscopie infrarouge | 65 |

| | | |
|---------|---|----|
| II.6. | Diffraction des rayons X (DRX) | 66 |
| II.6.1. | Historique | 66 |
| II.6.2. | Domaines d'application de la diffraction des rayons X | 67 |
| II.6.3. | Spectres des rayons X | 68 |

Chapitre 3 Matériels et méthodes

| | | |
|------------|---|----|
| III.1. | Présentation et situation géographique de la zone d'étude | 70 |
| III.2. | Aperçu climatique de la région de Constantine | 71 |
| III.3. | Choix du matériel végétal | 71 |
| III.4. | Echantillonnage et prélèvements | 72 |
| III.5. | Protocole expérimental de collecte des poussières | 73 |
| III.5.1. | Mode d'échantillonnage | 73 |
| III.5.2. | Lavage des feuilles en vue d'estimer les dépôts de particules | 73 |
| III.5.2.1. | Les solutions de lavage | 73 |
| III.5.2.2. | Description de l'essai | 74 |
| III.6. | Détermination des teneurs en métaux dans le tissu foliaire | 74 |
| III.6.1. | Performances de la méthode | 75 |
| III.7. | Méthodes spectrales | 76 |
| III.7.1. | Spectroscopie Raman | 76 |
| III.8. | Diffraction des rayons X (DRX) | 77 |
| III.8.1. | Principe de la méthode | 77 |
| III.9. | Analyses biochimiques | 78 |
| III.9.1. | Détermination des teneurs en proline | 78 |
| III.9.2. | Détermination des teneurs en sucres solubles | 79 |
| III.9.3. | Détermination des teneurs en chlorophylles | 79 |
| III.10. | Analyse statistique | 80 |
| III.10.1. | Analyse en composantes principales (ACP) | 81 |
| III.10.2. | La Méthode SIMPLISMA | 82 |
| III.10.3. | L'analyse de la variance (Anova) | 82 |

Résultats et discussion

Chapitre IV Résultats et discussion des analyses par Spectroscopie Raman

| | | |
|-------|-----------------------------------|----|
| IV.1. | Analyse de l'échantillon E1 | 86 |
| IV.2. | Echantillon 1 répétition 2 (E1R2) | 91 |
| IV.3. | Echantillon E1R3 | 98 |

Chapitre V Résultats et discussion des Teneurs en métaux dans le tissu foliaire

| | | |
|----------|---|-----|
| V.1. | Teneurs en métaux | 110 |
| V.1.1. | Teneurs en métaux dans la poussière collectée sur le système foliaire | 110 |
| V.1.2. | Teneurs en métaux dans le tissu foliaire | 110 |
| V.1.2.1. | Teneurs en cadmium | 111 |
| V.1.2.2. | Teneurs en chrome | 113 |

| | | |
|---------------------|---|-----|
| V.1.2.3. | Teneurs en cuivre | 114 |
| V.1.2.4. | Teneurs en magnésium | 114 |
| V.1.2.5. | Teneurs en manganèse | 115 |
| V.1.2.6. | Teneurs en zinc | 116 |
| V.1.2.7. | Teneurs en aluminium | 116 |
| V.2. | Corrélations entre les métaux | 117 |
| V.2.1. | Corrélation et interaction entre Cd et Zn | 117 |
| V.2.2. | Corrélation et interaction entre chrome et manganèse | 118 |
| V.2.3. | Corrélation et interaction entre cuivre et manganèse | 118 |
| V.2.4. | Corrélation et interaction entre manganèse et magnésium | 118 |
| Chapitre VI | Résultats et discussion des analyses par diffraction des rayons X sur les particules | |
| VI.1. | Détermination des phases par diffraction des rayons X | 122 |
| VI-1.1. | Analyse des poussières déposées sur feuillage des conifères | 122 |
| VI-1.1.1. | Echantillon 1 | 123 |
| VI-1.1.2. | Echantillon 2 | 127 |
| VI-1.1.3. | Echantillon 3 | 127 |
| VI-1.1.4. | Echantillon 4 | 129 |
| Chapitre VII | Résultats et discussion des analyses biochimiques | |
| VII.1. | Contribution des variations morphologiques au dépérissement forestier | 138 |
| VII.2. | Résultats des analyses biochimiques | 141 |
| VII.2.1. | Teneurs en chlorophylles (Chl) | 142 |
| VII.2.1.1. | Teneurs en chlorophylles chez <i>Cupressus sempervirens</i> L. | 144 |
| VII.2.1.2. | Teneurs en chlorophylles chez <i>Pinus halepensis</i> Mill. | 147 |
| VII.2.2. | Teneurs en Proline (PrI) | 151 |
| VII.2.2.1. | Teneurs en Proline chez <i>Cupressus sempervirens</i> L. | 151 |
| VII.2.2.2. | Teneurs en Proline chez <i>Pinus halepensis</i> Mill. | 153 |
| VII.2.3. | Teneurs en sucres solubles | 157 |
| VII.2.3.1. | Teneurs en sucres solubles chez <i>Cupressus</i> | 157 |
| VII.2.3.1. | Teneurs en sucres solubles chez <i>Pinus halepensis</i> Mill. | 160 |
| VII.2.4. | Analyses en composantes principales pour les paramètres biochimiques | 160 |
| VII.2.4.1. | Les corrélations | 160 |
| VII.2.4.3. | Signification des axes principaux | 161 |
| VII.2.4.3. | Etude des individus | 162 |
| | Conclusion générale | 168 |
| | Références bibliographiques | 172 |
| | Annexes | |

الموضوع : الردود البيئية على الإجهاد اللاحيائي المستحدث بجسيمات تلوث الغلاف الجوي في الصنوبريات

Pinus halepensis Mill. و *Cupressus sempervirens* L.

ملخص

يقيم هذا العمل دور النباتات العليا في الدلالة على التلوث و التأثير الكامن لنفايات الإسمنت باستعمال طرق مختلفة معتمدة على دراسة ثوابت بيوكيميائية و تشكليه و أيضا للصنوبريات، أسفرت عن اضطرابات و تلف الموارد الغابية في خمس محطات لأخذ العينات ، في ظل ظروف البيئة الطبيعية في منطقة قسنطينة ، في الجزائر. تم اختيار ثلاثة معايير كيميائية حيوية: محتويات اليخضور و البرولين و السكر القابل للذوبان. أظهرت الأنواع المختارة حساسية كبيرة للتعرض المستمر. كما أظهرت مختلف التقنيات المستعملة وجود كميات معتبرة من الغبار المترسب علي المساحات. وأتاحت المعالجة الكيميائية للبيانات الطيفية تحديد منتجات أغلبية ($CaCO_3$ و K_2CO_3 و C_2S و C_3S) و أخرى أقلية (TiO_2 و CaO)، ومعظمها من مشتقات الأسمنت. ثم تم استخدام طريقة SIMPLISMA لاستخراج أطيف المركبات النقية من الأنواع الكيميائية المعقدة الموجودة في الخليط وبيانات التركيز المرتبطة بها. أوضحت التحاليل المخبرية أنه تبعا للتعرض المستمر لترسبات طبقات الغبار إن أصناف الأشجار أظهرت أضرارا تشكليه هامة تعزى للتلوث الجوي وتساهم بالتالي في تلفها. تختلف تراكيز بعض المكونات البيوكيميائية في صنف واحد من محطة دراسية إلى أخرى. فقيم الكلوروفيل الأقل ارتفاعا سجلت أدنى مستوياتها بحوالي 90,84 %، عند الصنوبر، و 78,84% عند السرو مما يساهم في تدهور عملية التركيب الضوئي وإعداد المادة العضوية. لم ينتج عن التلوث السائد تراكيز عالية من الحمض الأميني (البرولين) الحر في نسيج الأوراق. تتناسب تراكيز السكريات القابلة للذوبان مع نسب الغبار المترسب على مساحات الأوراق عند الصنوبريات. أظهرت أصناف النباتات المستعملة قابلية كبيرة لمقاومة التلوث أو تحمله مثل السرو، أو حساسية هامة مثل الصنوبر الحلبي مرتبطة بالظروف البيئية.

الكلمات المفتاحية : نباتات دالة على التلوث، ترسبات الجزيئات، الصنوبريات، إجهاد، طيف رامان، حيود الأشعة السينية، SIMPLISMA، قسنطينة.

Intitulé : Réponses écotoxicologiques aux stress abiotiques induits par une pollution atmosphérique particulaire chez *Pinus halepensis* Mill. et *Cupressus sempervirens* L.

Résumé

Ce travail se consacre à l'étude de l'impact potentiel attribué aux rejets de particules de poussières d'une cimenterie, sur le mécanisme métabolique de conifères, dans cinq stations de prélèvements, dans des conditions de milieux naturels dans la région de Constantine, en Algérie. Trois paramètres biochimiques sont sélectionnés : la teneur en Chlorophylles, en Proline et en Sucres solubles. Les espèces choisies ont montré une grande sensibilité à l'exposition continue. Les analyses qualitatives par spectroscopie Raman et Diffraction des rayons X, pour des échantillons de poussières collectés sur le système foliaire sont effectuées dans le but d'identifier les substances responsables des changements observés. Ces outils de caractérisation ont permis de déterminer localement, les différentes phases présentes. Le traitement chimiométrique des données spectrales a pu identifier des produits majoritaires (CaCO_3 , K_2CO_3 , C_2S et C_3S) et d'autres minoritaires (TiO_2 et CaO), la plupart étant des dérivés de ciments. La méthode SIMPLISMA est utilisée pour extraire les spectres de composés purs des espèces chimiques complexes présentes dans le mélange et les profils de concentrations associés. Les contraintes particulières du milieu ont une influence déterminante sur la situation des arbres, avec des variations hautement significatives du contenu en métabolites. Les teneurs en chlorophylles varient significativement d'une station à une autre, la réduction observée au niveau de la station à proximité de la cimenterie est de 78,84% pour *Cupressus sempervirens* et 90,84% pour *Pinus halepensis*. Concernant la proline, les réponses des plantes sont légèrement variables. Toutefois, pour l'accumulation des sucres solubles, les contraintes de la pollution varient considérablement et paraissent en relation avec les conditions environnementales.

Mots clés : Indicateurs biochimiques, pollution particulaire, *Coniferales*, stress, spectroscopie Raman, DRX, SIMPLISMA, Constantine.

Entitled : Ecophysiological responses to an abiotic stress induced by atmospheric particular pollution at *Pinus halepensis* Mill. and *Cupressus sempervirens* L.

Abstract

This work focuses on the study of the potential impact attributed to the release of dust particles from a cement factory, on the metabolic mechanism of conifers, in five sampling stations, under natural conditions in the periphery of Constantine, in Algeria. Three biochemical parameters are selected : Chlorophylls and Proline and soluble Sugars contents. The selected species showed great sensitivity to continuous exposure. Qualitative analyzes by Raman spectroscopy and X-ray diffraction for dust samples collected on the needles are performed in order to identify the substances responsible for the observed changes. These characterization tools made it possible to determine locally the different phases present. The chemometric treatment of the spectral data was able to identify major products (CaCO_3 , K_2CO_3 , C2S and C3S) and other minority products (TiO_2 and CaO), most of them being cement derivatives. The SIMPLISMA method is used to extract spectra of pure compounds from the complex chemical species found in the mixture and associated concentration profiles. The particles constraints of the environment have a decisive influence on the situation of the trees, with highly significant variations in the metabolites content. The chlorophyll levels vary significantly between stations, the reduction observed at the station near the cement factory is 78,84% for *Cupressus sempervirens* and 90,84% for *Pinus halepensis*. Concerning Proline, the responses of plants are slightly variable. However, for the accumulation of soluble Sugars, the pollution constraints vary considerably and appear to be related to environmental conditions.

Key words : Biochemical indicators, Dust pollution, Coniferals, Plant stress, DRX, Raman spectroscopy, SIMPLISMA.

Liste des figures

| N° figure | Titre | N° page |
|--------------|--|------------|
| Figure I-1 | Aspect général de spécimens de <i>Pinus halepensis</i> Mill. utilisés | 7 |
| Figure I-2 | (a) aiguilles et (b) cône de <i>Pinus halepensis</i> Mill. | 8 |
| Figure I-3 | Aspects de spécimens de <i>Cupressus sempervirens</i> (a) Forme horizontalis (b) Forme pyramidalis utilisés | 11 |
| Figure I-4 | Verticilles (Feuilles) de <i>Cupressus sempervirens</i> L. | 12 |
| Figure I-5 | Fleurs de <i>Cupressus sempervirens</i> | 12 |
| Figure I-6 | Cônes fructifères de <i>Cupressus sempervirens</i> L. | 13 |
| Figure II-1 | Structure de la molécule de chlorophylles a et b | 19 |
| Figure II-2 | Structure tridimensionnelle de la molécule de chlorophylle. | 20 |
| Figure II-3 | Ultrastructure schématique d'un chloroplaste. | 22 |
| Figure II-4 | Voie de biosynthèse de la proline dans les plantes supérieures. | 24 |
| Figure II-5 | Voie de biosynthèse de la proline dans les plantes. | 25 |
| Figure II-6 | Structure tridimensionnelle de la proline | 27 |
| Figure II-7 | Schémas de principe d'un Microscope Raman confocal | 61 |
| Figure III-1 | Situation géographique de (a) Constantine et (b) de la zone d'étude et localisation des sites de prélèvements | 70 |
| Figure III-2 | Microscope Raman utilisé dans l'étude | 76 |
| Figure III-3 | Diffractomètre automatique de poudres D-5000 Siemens utilisé | 77 |
| Figure IV-1 | Image de microscopie optique de la zone analysée, grossissement x 20 de l'échantillon (E1), de poussières collectées dans la station S2 | 86 |
| Figure IV-2 | Représentation des différents spectres (a) Spectres originaux de l'échantillon E1 ; (b) spectres reconstruits ; (c) Différence Spectres originaux – spectres reconstruits. | 87 |
| Figure IV-3 | Profil de concentrations de l'échantillon E1 | 87 |
| Figure IV-4 | Cartographie moléculaire d'une zone de 9 X 9 µm de l'échantillon E1. La présence des composés est donnée par l'échelle de couleurs | 88 |
| Figure IV-5 | Cartes de concentration correspondant aux quatre constituants purs extraits. | 89 |
| Figure IV-6 | Résultats SIMPLISMA pour les 4 constituants extraits de l'échantillon E1 | 90 |
| Figure IV-7 | Image microscopie optique de la zone analysée grossissement X 20 de l'échantillon E1R2 de poussières collectées au niveau de la station 2 | 92 |

| | | |
|--------------|--|-----|
| Figure IV-8 | Cartographie moléculaire d'une zone de 13 x 13 μm de l'échantillon E1R2. | 93 |
| Figure IV-9 | Spectres Raman originaux de l'ensemble de l'échantillon E1R2 réalisés en mode cartographie | 93 |
| Figure V-10 | (a) Spectre Raman moyen de l'échantillon (b) Spectre Raman (moyen) de mélange reconstruit | 94 |
| Figure IV-11 | Spectres Raman de mélange obtenus en dérivée seconde | 95 |
| Figure IV-12 | Résultats SIMPLISMA pour 7 constituants extraits de l'échantillon E1R2. | 96 |
| Figure IV-13 | Spectre Raman de Na_2CO_3 pur réalisé au laboratoire | 97 |
| Figure IV-14 | Image microscopie optique de la zone analysée au grossissement X 20 de l'échantillon (E1R3) de poussières collectées au niveau de la station 3. | 98 |
| Figure IV-15 | Cartographie moléculaire d'une zone de 17 x 16 μm de l'échantillon E1R3 collecté au niveau de la station S2. | 99 |
| Figure IV-16 | (a) ; (b) Spectres Raman originaux de l'ensemble de l'échantillon E1R3, réalisés en mode cartographie (272 spectres) | 99 |
| Figure IV-17 | Spectre Raman moyen de l'échantillon E1R3 | 100 |
| Figure IV-18 | Spectres obtenus en dérivée seconde de l'échantillon E1R3 | 101 |
| Figure IV-19 | Cartes de concentration des différents constituants purs. Les concentrations des composants sont proportionnelles à l'intensité des couleurs. | 102 |
| Figure IV-20 | Résultats SIMPLISMA pour 6 constituants extraits de l'échantillon E1R3. | 104 |
| Figure IV-21 | Spectres de référence originaux de CaO pur réalisés au laboratoire, en mode cartographie ; (a) région 4000–400, (b) région 1200–400 cm^{-1} | 105 |
| Figure IV-22 | Spectre de référence K_2CO_3 réalisé au labo | 105 |
| Figure V-1 | Teneurs en cadmium dans le tissu foliaire | 112 |
| Figure V-2 | Teneurs en Chrome dans le tissu foliaire | 113 |
| Figure V-3 | Teneurs en cuivre dans le tissu foliaire | 114 |
| Figure V-4 | Teneurs en magnésium dans le tissu foliaire | 115 |
| Figure V-5 | Teneurs en zinc dans le tissu foliaire | 116 |
| Figure V-6 | Corrélation entre les teneurs Cd et Zn dans la solution EDTA | 117 |
| Figure V-7 | Corrélation entre les teneurs Cd et Zn dans la solution EDTA de lavage de feuilles de <i>pinus halepensis</i> | 118 |
| Figure V-8 | Corrélation entre les teneurs Cd et Zn dans la solution EDTA pH 2 dans les poussières recueillies sur les feuilles du <i>Cupressus</i> | 118 |
| Figure VI-1 | Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 1 des poussières | 123 |
| Figure VI-2 | Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 2 des poussières prélevées | 127 |

| | | |
|---------------|--|-----|
| | sur <i>Cupressus sempervirens</i> en S3 | |
| Figure VI-3 | Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 3 des poussières prélevées sur les feuilles de <i>Pinus halepensis</i> en S2 | 128 |
| Figure VI-4 | Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 4 des poussières prélevées sur les folioles de <i>Pinus halepensis</i> en S1 | 129 |
| Figure VI-5 | Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 5 des poussières prélevées sur les aiguilles de <i>Cupressus sempervirens</i> en S3 | 130 |
| Figure VI-6 | Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 6 des poussières prélevées sur les aiguilles de <i>Pinus halepensis</i> en S2 (HCl) | 132 |
| Figure VI-7 | Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 7 des poussières prélevées sur les aiguilles de <i>Cupressus sempervirens</i> en S2 | 133 |
| Figure VI-8 | Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 8 des poussières prélevées sur les feuilles de <i>Cupressus sempervirens</i> en S5 | 134 |
| Figure VI-9 | Diagramme de diffraction RX de l'échantillon des poussières prélevées sur les aiguilles de <i>Cupressus sempervirens</i> en S1 | 136 |
| Figure VII-1 | Aiguilles de <i>Pinus halepensis</i> et verticilles de <i>Cupressus sempervirens</i> L. | 139 |
| Figure VII-2 | Verticilles de Cyprès en provenance de la station S1 (a) et S2 (b). | 141 |
| Figure VII-3 | Teneurs en chlorophylles chez <i>Cupressus sempervirens</i> (1 ^{ère} série). | 145 |
| Figure VII-4 | Teneurs en chlorophylles chez <i>Cupressus sempervirens</i> (2 ^{ème} série). | 146 |
| Figure VII-5 | Variation des teneurs en Chlorophylles. | 146 |
| Figure VII-6 | teneurs en chlorophylles chez <i>Pinus halepensis</i> (1 ^{ère} série). | 148 |
| Figure VII-7 | Teneurs en chlorophylles chez <i>Pinus halepensis</i> (2 ^{ème} série). | 149 |
| Figure VII-8 | Teneurs en proline (1 ^{ère} série). | 151 |
| Figure VII-9 | Teneurs en proline (2 ^{ème} série) | 153 |
| Figure VII-10 | Fonctions "shématiques" de l'acide aminé Proline | 155 |
| Figure VII-11 | Teneurs en sucres totaux (1 ^{ère} série). | 157 |
| Figure VII-12 | Teneurs en sucres solubles (2 ^{ème} série). | 158 |
| Figure VII-13 | Plan 1 – 2 et cercle des corrélations (Variables biochimiques). | 160 |
| Figure VII-14 | Diagramme des individus de l'ACP appliquée sur variables biochimiques. | 163 |

Liste des tableaux

| N° tableau | Titre | Page |
|---------------|---|------|
| Tableau II-1 | Tailles caractéristiques des divers corps atmosphériques. | 31 |
| Tableau II-2 | Vitesse et pression du vent | 32 |
| Tableau II-3 | Teneurs en métaux contenus dans le ciment Portland et dans la roche naturelle | 40 |
| Tableau II-4 | Composition chimique en ppm de quelques métaux et minerais contenus dans le ciment Portland d'après | 40 |
| Tableau II-5 | Composition chimique de la colonne atmosphérique d'aérosols en 1995 | 54 |
| Tableau II-6 | Détermination de la composition chimique du ciment (% poids). | 56 |
| Tableau II-7 | Tableau récapitulatif des principales Phases du ciment | 56 |
| Tableau II-8 | Coefficients linéaires de corrélation entre la composition élémentaire des phases et la composition en vrac du ciment. | 57 |
| Tableau II-9 | Domaines du spectre infrarouge | 64 |
| Tableau III-1 | Description des essais de lavage des feuilles. | 74 |
| Tableau III-2 | Conditions opératoires des éléments analysés en spectrophotométrie d'absorption atomique (Perkin Elmer AAS Manual). | 76 |
| Tableau VI-1 | Distances interréticulaires de l'échantillon 1 et celles du sulfate de calcium dihydraté ou gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (33-0311) et leurs écarts | 124 |
| Tableau VI-2 | Distances interréticulaires de l'échantillon 1 et celles du sulfate de manganèse magnésium ($\text{Mn, Mg SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (42-0614) et leurs écarts. | 124 |
| Tableau VI-3 | Distances interréticulaires de l'échantillon 1 et celles de l'oxyde de manganèse, variété $\gamma\text{-MnO}_2$ (14-0644) et leurs écarts | 125 |
| Tableau VI-4 | Distances interréticulaires de l'échantillon 1 et celles de l'oxyde de silicium (SiO_2) (47-1300) et leurs écarts | 125 |
| Tableau VI-5 | Distances interréticulaires de l'échantillon 1 et celles du sulfide de fer (FeS_2), variété Marcasite (02-1342) et leurs écarts. | 126 |
| Tableau VI-6 | Distances interréticulaires de l'échantillon 1 et celles du sulfide de fer (FeS_2), variété Pyrite (02-1370) et leurs écarts. | 126 |
| Tableau VI-7 | Distances interréticulaires de l'échantillon 1 et celles du silicate de calcium aluminium hydraté ($\text{CaAl}_2 (\text{SiO}_3)_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (15-0179) et leurs | 126 |

| | | |
|---------------|--|-----|
| | écarts. | |
| Tableau VI-8 | Distances interréticulaires de l'échantillon 2 et celles du sulfate de calcium dihydraté ou gypse ($\text{CaSO}_4\text{-}2\text{H}_2\text{O}$) (06-0046) et leurs écarts | 127 |
| Tableau VI-9 | Distances interréticulaires de l'échantillon 3 et celles du sulfate de calcium dihydraté ou gypse ($\text{CaSO}_4\text{-}2\text{H}_2\text{O}$) (33-0311) et leurs écarts | 128 |
| Tableau VI-10 | Distances interréticulaires de l'échantillon 4 et celles du sulfate de calcium dihydraté ou gypse ($\text{CaSO}_4\text{-}2\text{H}_2\text{O}$) (33-0311) et leurs écarts | 129 |
| Tableau VI-11 | Distances interréticulaires de l'échantillon 3 et celles de l'oxyde de manganèse, variété $\alpha\text{-MnO}_2$ (44-0141) et leurs écarts | 130 |
| Tableau VI-12 | Distances interréticulaires de l'échantillon 5 et celles de l'oxyde de manganèse, variété $\alpha\text{-MnO}_2$ (44-0141) et leurs écarts | 131 |
| Tableau VI-13 | Distances interréticulaires de l'échantillon 4 et celles de l'oxyde de manganèse, MnO_2 (42-1316) et leurs écarts | 131 |
| Tableau VI-14 | Distances interréticulaires de l'échantillon 6 et celles de la pyrite FeS_2 (02-1933) et leurs écarts | 132 |
| Tableau VI-15 | Distances interréticulaires de l'échantillon 7 et celles du sulfide de plomb Pb_2SiS_4 (25-0457) et leurs écarts | 133 |
| Tableau VI-16 | Distances interréticulaires de l'échantillon 8 et celles du carbonate de sodium $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-}10\text{H}_2\text{O}$ (15-0800) et leurs écarts | 135 |
| Tableau VII-1 | Matrice des corrélations des différentes variables biochimiques analysées | 160 |
| Tableau VII-2 | Contribution des variables dans la construction des composantes principales | 160 |
| Tableau VII-3 | Codification des individus par rapport aux différentes stations | 162 |

Liste des abréviations

Å : Angström.

ACP : Analyse en composantes principales

ANOVA : Analyse of variance (Analyse de la variance)

ASTM : American Society for Testing Materials

ATR : Attenuated Transmission Reflectance

C₃A : Aluminate tricalcium

C₄AF : Aluminoferrate tétracalcium

CCE : Commission de coopération environnementale

C₂S : Silicate dicalcium

C₃S : Silicate tricalcium

Chl : Chlorophylle

DO : Densité optique

DRX : Diffraction des rayons X

EDTA : Ethylène diamine tetra-acétique

ICDD : Centre International de données de la Diffraction

IR : Infrarouge

IRTF : Infra rouge à transformée de Fourier

LESA : Laboratoire d'Ecotoxicologie et Stress Abiotiques

METICA : Methodologie, Traitement de l'Information en Chimie

NAIST : National Institute of advanced Industrial Science and Technology

ns : non significatif

OMNIC : Opening Mapping Nicolet

O.N.M. : Office National de Météorologie

PDF : Powder Diffraction File

PIR : Proche Infrarouge

pm : picomètre

ROS : Reactif Oxygen Species

SOD : Superoxyde dismutase

SIMPLISMA : SIMPLe-to-use Interactive Self-Modeling Mixture Analysis

SPSS : Statistical Product and Service Solutions

USEPA : United States Environmental Pollution Agency

UV : Ultraviolet

Introduction

Ce travail se situe à l'interface entre la biologie, la chimie et l'environnement. Il s'inscrit dans le cadre d'une collaboration entre les deux laboratoires : Laboratoire d'Instrumentation et Sciences Analytiques de l'équipe Methodologie, Traitement de l'Information en Chimie, Aix-Marseille Université (METICA) et, le Laboratoire d'Ecotoxicologie et Stress Abiotiques (LESA) de l'Université des frères Mentouri de Constantine.

Les conifères représentent une richesse forestière inestimable en tant que matériel biologique de qualité, que l'Homme a de tout temps exploités de différentes manières et pour divers usages. Ces espèces représentent une ressource vitale pour la vie en ayant un rôle écologique de purification de l'air et de protection des sols contre l'érosion. Ils montrent globalement une grande plasticité vis-à-vis des conditions du milieu et font preuve d'une remarquable tolérance aux multiples stress. *Cupressus sempervirens* L. et *Pinus halpensis* Mill. constituent deux conifères des plus répandus dans la zone d'étude, car ils offrent une grande diversité forestière, car ils se trouvent quelques fois associés à d'autres espèces forestières importantes.

Dans le monde entier, l'impact de la pollution sur l'environnement suscite de vives préoccupations. Le développement des infrastructures en Algérie et plus précisément les industries, peut être à l'origine d'une importante augmentation du taux de polluants dans l'air et peut affecter les êtres vivants, dont particulièrement la végétation. Cependant, la quantification de cette pollution est possible en utilisant ces espèces végétales de strate arborescente et arbustive.

Actuellement, le dépérissement est perçu comme une "maladie physiologique" typique qui "exprime les perturbations du métabolisme, les retards de croissance ou anomalies de développement résultant de causes altéragènes abiotiques non transmissibles d'une plante à l'autre".

Le phénomène de dépérissement des conifères a été signalé dans de nombreuses forêts algériennes. Dans certaines forêts, il touche jusqu'à 20 % des arbres. Les premières sénescences ont été signalées il y a plus de 30 ans, où les dépérissements semblent avoir pris une ampleur dramatique depuis 1985.

En Algérie, le dépérissement spectaculaire des conifères, principalement dans la région de Constantine, pourrait être expliqué par plusieurs hypothèses : la pollution particulaire par les dépôts de poussières générées par la cimenterie de Hamma Bouziane, la nature des éléments constitutifs des poussières (essentiellement les métaux lourds), la pollution atmosphérique par les pots d'échappement du trafic routier émettant de nombreux polluants dans l'atmosphère. Ceux-ci sont souvent associés à l'altération des surfaces foliaires observée et la détérioration du couvert végétal. Parce qu'au niveau d'une cimenterie, la poussière est générée à tous les stades du processus de production, depuis l'exploitation de la roche jusqu'à sa distribution. Les fines particules sont dispersées via la haute cheminée et répandues sur de vastes aires.

Une partie du travail, concernant l'évaluation des quantités des aérosols déposés, est menée pour évaluer l'efficacité d'interception des poussières par les conifères et l'impact du dépôt des poussières sur les teneurs en chlorophylles et en sucres solubles dans le tissu foliaire. Le but étant de comprendre si le dépérissement est lié à la pollution de l'atmosphère induite par l'industrie du ciment et ses effluents particuliers.

Les teneurs en ions métalliques chez les plantes peuvent causer différentes perturbations aux stress. Parmi les nombreux polluants modernes qui interfèrent avec le métabolisme des plantes à différents stades, les métaux lourds sont les polluants non biodégradables les plus courants dans la littérature de par le monde. La détermination des teneurs en certains métaux toxiques dans le tissu foliaire, permet le calcul de la corrélation avec les quantités de dépôts par unité de surface foliaire. Un suivi de la translocation de ces éléments dans la plante précise l'effet de ces métaux au niveau de chaque organite.

Ce travail est destiné à évaluer l'impact de la pollution atmosphérique en comparant et étudiant différents sites pollués ou non pollués. Le but est de :

- 1) détecter les seuils de changements métaboliques induits par le stress, par le biais des indicateurs biochimiques. Plusieurs espèces végétales sont analysées,
- 2) évaluer les teneurs en métaux lourds dans les poussières de ciment collectées sur les aiguilles du pin et verticilles des cyprès puis dans la matière fraîche des mêmes aiguilles et verticilles; et
- 3) caractériser la pollution par les aérosols particuliers en dépôts sur le système foliaire,

4) analyser statistiquement les variations significatives de la distribution des polluants entre les stations d'étude et la cimenterie.

Il est intéressant de se pencher sur une connaissance approfondie et rigoureuse de la composition des différents éléments actifs dans les poussières, ainsi que leur distribution spatiale en ayant recours à la Spectroscopie Raman.

L'utilisation de la Spectroscopie Raman dans les études de caractérisation de la pollution par les particules de poussière s'avère d'une grande efficacité. Couplée à la chimométrie, elle permet de ressortir, indépendamment de l'étude quantitative, les constituants majeurs par ordre d'abondance dans les échantillons de poussières.

De par leurs propriétés physico-chimiques, les aérosols carbonatés et sulfatés produits par l'industrie du ciment peuvent avoir un effet direct sur le climat en jouant un rôle important dans les processus globaux de changement climatique. Ils ont un impact certain sur les écosystèmes, les processus de chimie atmosphérique et la santé. Les carbonates particuliers représentent l'une des classes les plus importantes des aérosols atmosphériques.

L'utilisation de la microscopie Raman confocale dans l'étude de caractérisation de cette pollution par les poussières s'avère d'un grand intérêt. Couplée au traitement chimométrique des données, elle permet de déterminer les composantes des particules hétérogènes dans l'échantillon, afin d'évaluer les impacts potentiels des retombées atmosphériques de l'industrie du ciment sur certains végétaux, dans le parcours aérien qui s'étend sur une vaste zone.

Dans cette étude, la microscopie Raman confocale renseigne sur la composition chimique des poussières émises par les cimenteries et ceci à l'échelle des particules et la diffraction des rayons X (DRX) renseigne, elle, sur la phase cristalline. Malheureusement, leur importante hétérogénéité, même à l'échelle du micron, induit un recouvrement important des données spectrales. Dans ce cas, l'utilisation de méthodes chimométriques de résolution de spectres offre de nombreux avantages.

Le traitement Chimométrique des données spectrales acquises en microscopie Raman permet l'identification des différentes composantes de particules hétérogènes. Nous allons essayer de discuter de la capacité de la microspectrométrie Raman associée aux méthodes de traitement

des données à résoudre des spectres de poussières recueillies à proximité et à différentes distances de la cimenterie.

Dans le premier chapitre, nous avons exposé une synthèse bibliographique résumée aux espèces végétales préconisées dans l'étude, leur présentation simplifiée, leur systématique et leur aptitude à faire partie des plantes qui semblent constituer des bioindicateurs de pollution atmosphérique ; ainsi qu'une revue globale mettant le point sur trois différents paramètres biochimiques, dans le deuxième chapitre, liés à la partie aériennes des végétaux et sensibles à l'incidence d'événements particuliers du climat de pollution aux dépôts atmosphériques.

Le deuxième chapitre est consacré à certaines espèces polluantes, issues de l'activité anthropique, pouvant affecter la composition de l'atmosphère, à savoir les éléments traces métalliques et les matières particulaires ; tout en considérant un aspect des plus importants, l'**écotoxicologie** de ces retombées sur les espèces arbustives ainsi que l'impact sur l'environnement d'une façon générale.

Le chapitre 4 consiste en une description de la zone d'étude ainsi que les essais expérimentaux effectués, suivi d'un rappel du matériel et des différentes méthodes biologiques et chimiques utilisées ; et aborde la répartition spatio-temporelle des mesures, la distribution spatiale des stations et le nombre de paramètres pris en considération.

Le chapitre 5 est consacré aux résultats des mesures des paramètres à l'aide de diagrammes, graphiques et tableaux, renforcés par l'analyse statistique et la discussion de ces résultats.

Chapitre 1

Monographie de *Pinus halepensis* Mill. et de *Cupressus sempervirens* L., et leur utilisation dans la bioindication

Les conifères forment un grand groupe d'arbres et d'arbustes à inflorescence en cônes qui compte environ 48 genres et plus de 500 espèces. Ces espèces forment le groupe principal des gymnospermes. Les gymnospermes sont des plantes faisant partie du sous-embranchement des polyphylétiques ou phanérogames, qui inclut les plantes dont l'ovule est à nu, porté par une feuille fertile. Tous les conifères sont des gymnospermes, les sapins se rencontrent en montagnes, les pins en plaines et montagnes et d'autres conifères tels que les Thuyas, le genévrier les cyprès répandus notamment en Méditerranée. Ces espèces montrent globalement une grande plasticité vis-à-vis des conditions édaphiques, certaines font également preuve d'une remarquable tolérance à la sécheresse.

I.1. Le pin d'Alep ou *Pinus halepensis* Mill.

I.1.1. Présentation de la famille des *Pinaceae*

La famille des Pinacées (*Pinaceae*), ou Abiétacées, est une famille de plantes gymnospermes, connus aussi sous le nom de résineux, qui compte 220 à 250 espèces réparties en 11 genres. Elles sont originaires et peuplent abondamment les régions tempérées du globe terrestre. Ce sont des arbres d'une hauteur allant de 2 à 100 m, leurs feuilles sont sous forme d'aiguilles vertes, piquantes ou non, longues, attachées seules aux rameaux, ou réunies par 2 ou en rosettes (Figure I-1) (Chagne, 2004).



Figure I-1 : Aspect général de spécimens de *Pinus halepensis* Mill. utilisés dans le travail

Les Pinacées sont des "conifères" portant des cônes comme organes de reproduction qui ne sont ni des inflorescences ni des infrutescences (Figure I-2). Les cônes mâles, ressemblant à des chatons dressés, bien que petits, produisent une grande quantité de pollen jaune à jaune orangé dispersé par le vent, alors que les cônes femelles, plus gros, dressés sur les rameaux ou pendants au-dessous, contiennent les ovules nus, qui, après fécondation, deviennent des graines ailées. Cette famille est représentée en Algérie par trois genres : le Genre *Abies* (le sapin), le Genre *Cedrus* (le cèdre) et le Genre *Pinus* (le pin) (Chagne, 2004).

C'est une espèce monoïque unisexuée, dont la floraison s'effectue au mois de mai. Le cône mâle est considéré comme fleur ; celui femelle est une inflorescence presque terminale. Les cônes fructifères sont isolés et demeurent accrochés durant 3 ans à l'arbre. Le bois, d'assez peu de valeur, est cependant utilisé en construction (Lieutaghi, 2004).

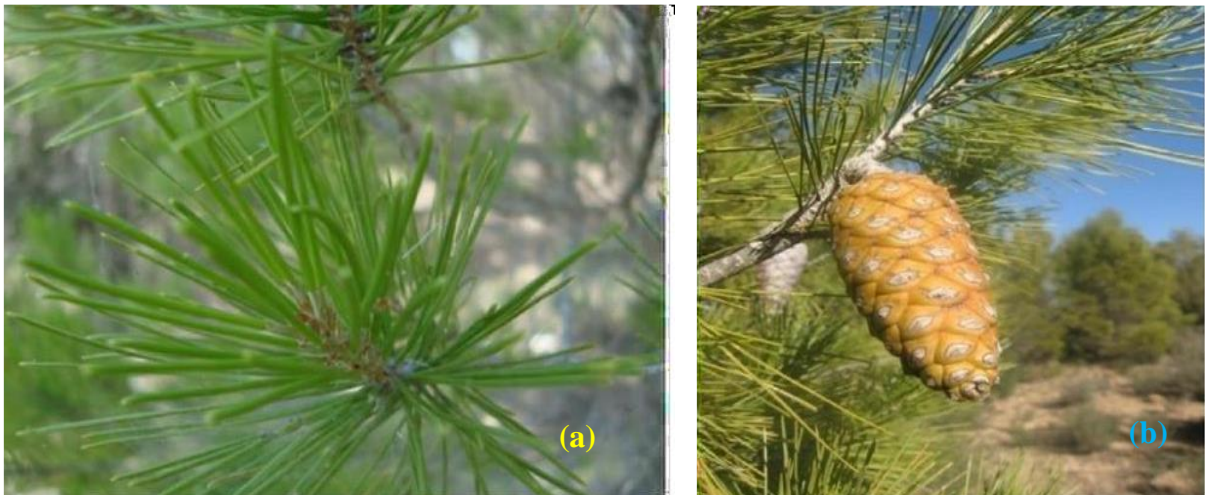


Figure I-2 : (a) aiguilles et (b) cône de *Pinus halepensis* Mill.

I.1.2. Présentation du genre *Pinus*

Les pins du genre *Pinus*, appartiennent à la famille des *Pinaceae*. Il s'agit d'arbres dont le développement et le port sont très variés (Lieutaghi, 2004). Le pin d'Alep est une plante monoïque à fleurs mâles et femelles séparées, situées sur le même individu; et groupées en épis (More et White, 2005).

L'inflorescence femelle ou cône, une fois la fécondation accomplie, mûrit en deux (rarement en trois) ans. Après la formation des graines et l'ouverture des écailles, le cône peut tomber ou rester sur l'arbre. Les graines sont souvent ailées, ce qui facilite leur dissémination par le vent et

l'extension de leur aire de distribution. Le genre *Pinus* est séparé en deux sous-genres : *Pinus* (2 à 3 aiguilles) et *Strobus* (5 aiguilles) qui regroupent un peu plus d'une soixantaine d'espèces. Ces sous genres sont divisés en sections, subdivisées elles-mêmes en sous-sections (Chaumeil, 2006).

En Algérie, le Pin d'Alep occupe une importante place parmi les essences forestières. C'est une espèce plastique, qui se développe dans les stations les plus diverses et supporte bien la sécheresse, le froid et le vent. De ce fait, l'essence occupe une aire de répartition étendue vue son adaptation au milieu (Nahal, 1962 ; Kadik, 1987).

I.1.3. Position systématique de l'espèce *Pinus halepensis* Mill.

Pinus halepensis est un conifère de la famille des *Pinaceae* qui fut décrit pour la première fois par Duhamel, en 1755, sous le nom de *Pinus hierosolimitana*. Plus tard, Philip Miller l'a redécrit, en 1768, sous le nom de *Pinus halepensis* Mill. (Nahal, 1962).

Pinus halepensis appartient au sous règne des *Tracheobionta*, à l'Embranchement des *Spermatophytes*, au Sous-embranchement des *Gymnospermes*, à la Classe des *Pinopsida*, à l'Ordre des *Coniferales*, au Sous-famille des *Pinoideae*, au Genre *Pinus*, à l'Espèce *Halepensis* et à la Sub espèce *Halepensis* (Camus, 1914).

Rapporté par Quezel en 1986, de Gausson en 1960, le groupe *halepensis* du Genre *Pinus* représente un des trois groupes de la section *Halepensoides*, caractérisé par des feuilles à deux aiguilles et à cônes caducs. Dans ce groupe, plusieurs espèces ont été décrites, mais deux seulement sont considérées actuellement comme de véritables espèces par la majorité des systématiciens. Ces deux espèces sont : *Pinus halepensis* **Mill.** et *Pinus brutia* **Ten.**

Les pins du genre *Pinus*, sont des conifères caractérisés par le nombre d'au moins 111 espèces décrites dont beaucoup sont des essences forestières importantes. L'espèce *Pinus halepensis* **Mill.**, porte le nom de pin d'Alep en Français et *Aleppo Pine* en Anglais, c'est un pin à deux feuilles, habitant la Région Méditerranéenne, appartenant au groupe *halepensis*, à la famille des *pinacées* (abiétacées), au genre *Pinus*, sous genre *Eupinus*, section *halepensis*, et sous-groupe *halepensis*. Ce groupe est représenté essentiellement par deux espèces *Pinus halepensis* Mill. et *Pinus brutia* Ten (Lieutaghi, 2004).

I.1.4. Caractères botaniques et dendrologiques de *Pinus halepensis* Mill.

Le pin d'Alep ne vit pas longtemps, sa longévité ne dépasse pas 200 ans avec une moyenne de 100 à 150 ans (Nahal, 1962 ; Kadik, 1987). C'est un arbre de taille moyenne pouvant atteindre 25 à 27 mètres de hauteur (Boudy, 1950). Il existe de beaux peuplements à futs élancés, droits et peu branchus avec une hauteur qui dépasse rarement les 10 mètres (Kadik, 1987). Les jeunes sujets ont une écorce lisse, gris argenté, qui devient avec le temps très crevacée et s'épaissit, avec une couleur rougeâtre. A son jeune âge, le pin possède une couronne conique, puis s'étale au fur et à mesure qu'il vieillisse. Ses graines sont ailées et enveloppées dans des téguments durs et résistants, dont la dissémination se fait par le vent, les insectes ou les oiseaux (Nahal, 1962).

Le pin d'Alep est une essence fréquente surtout en région méditerranéenne occidentale. Les pays du Maghreb constituent la zone où il offre son plus grand développement puisqu'on le rencontre à peu près partout sur les massifs montagneux ainsi que dans les zones littorales du Tell constantinois (Quezel, 1986).

1.2. Le cyprès

1.2.1. Présentation de la famille des *Cupressaceae*

Les cyprès, comme tous les conifères, sont monoïques, possédant sur un même individu des fleurs mâles et des fleurs femelles, à forte fécondité. Ils sont thermophiles et densément ramifiés. On les plante en lieu exposé, car ils ont une grande résistance au vent supportent aussi bien la sécheresse qu'un sol très calcaire. Les espèces de cyprès montrent globalement une grande plasticité vis-à-vis des conditions édaphiques, certaines font également preuve d'une remarquable tolérance vis-à-vis de la sécheresse (Riom, 2010).

Le Cyprès se développe dans les basses montagnes sèches, sur terrain calcaire et siliceux, généralement en mélange avec le *Juniperus phoeniceae*. Il résiste à une température pouvant atteindre $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, et Comme beaucoup de plantes méditerranéennes, c'est le froid humide en hiver qui peut être préjudiciable à sa longévité (Garnier et al., 1961).

1.2.1. Présentation du genre *Cupressus*

Le genre *Cupressus* est constitué de 25 espèces uniquement, présentes dans la zone tempérée chaude de l'hémisphère nord depuis la côte Ouest d'Amérique du nord jusqu'à la côte Est de la

Chine en passant par le bassin méditerranéen (Ducrey et al., 1999, cités par Giovanelli et De Carlo, 2007).

Cupressus sempervirens L. est un résineux, originaire de l'Europe orientale et de l'Asie occidentale. C'est une espèce monoïque à cônes unisexués terminaux caractérisée pour sa longévité. Ses feuilles sont de très petites écailles triangulaires disposées sur quatre rangs, densément et étroitement imbriquées, ne couvrant que les dernières divisions du rameau.

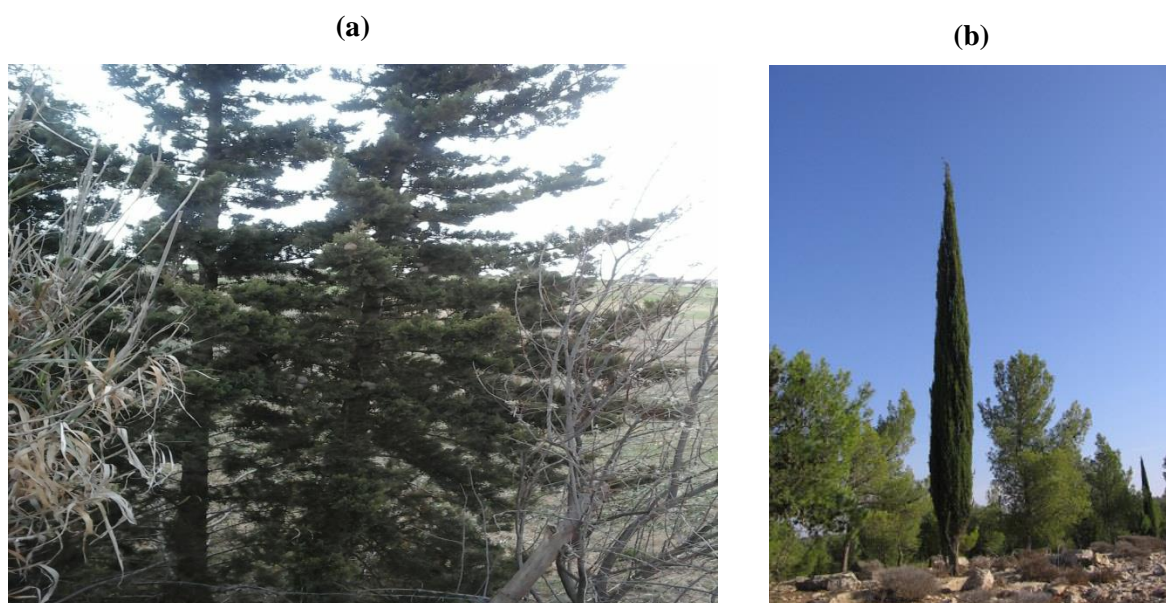


Figure I-3 : Aspects de spécimens de *Cupressus sempervirens* L. utilisés dans le travail

(a) Forme horizontalis (b) Forme pyramidalis

Des trois espèces méditerranéennes, le cyprès vert (*Cupressus sempervirens* L.) également nommé cyprès de Provence ou de Florence est le plus répandu. Il offre une très grande diversité notamment en terme de forme et est utilisé à des fins ornementales, en brise-vent ou encore en tant qu'arbre forestier ; nommé par les anglophones Mediterranean Cypress (Figure I-3).

I.1.3. Position systématique de *Cupressus sempervirens* Linn.

Les cyprès sont des conifères appartenant l'Embranchement des *Spermaphytes*, au Sous-embanchement des *Gymnospermes*, à l'ordre des *Cupressales*, au Genre *Cupressus* et à la famille des *Cupressaceae*, détachée de la Famille des *Pinacées*. Nous avons choisi dans ce travail l'espèce : *Cupressus sempervirens* Linné. pour sa réputation de plante bioindicatrice (Zayed et al., 1991) et pour son abondance dans toute la zone d'étude.

I.1.4. Caractères botaniques et dendrométriques du Cyprès vert

Le Cyprès est un arbre de taille moyenne pouvant atteindre les 40 mètres de hauteur. On distingue différentes formes de Cyprès qui, par sélection, ont donné des variétés aujourd'hui bien distinctes reproduites par bouturage. Il y'a notamment une forme aux branches horizontales et houppier conique : *Cupressus sempervirens* L. "horizontalis" (Figure I-3) et une forme colonnaire qui forme un fuseau plus ou moins étroit : *Cupressus sempervirens* L. "pyramidalis" ou "stricta". Le port est élancé, ou conique, en étroite colonne, compact et dense. Le feuillage est persistant, aromatique, de couleur vert foncé.



Figure I-4 : Feuilles de *Cupressus sempervirens* L.

Les feuilles sont des écailles cypressoides, opposées, décussées, imbriquées et légèrement aplaties (Figure I-4). Les fleurs sont localisées à l'extrémité des rameaux, chatons mâles de couleur jaune à brun clair, chargés en pollen pouvant être allergisant durant les mois de février et mars (Figure I-5), les chatons femelles sont globuleux, verts, réunis à l'extrémité des jeunes pousses. Les graines sont irrégulières, à coque épaisse et aile étroite (Camus, 1914).

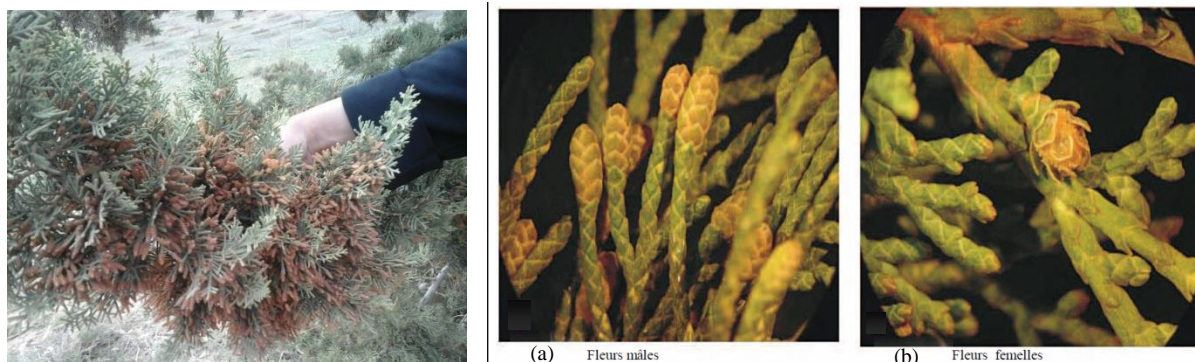


Figure I-5 : Fleurs de *Cupressus sempervirens* (Marcello et al., 2004, cités par Nichan, 2015).

Les graines sont petites, mesurant de 4 à 7 mm de long, et portent deux ailes, de part et d'autre de la graine. Les fruits sont strobiles, globulaires, verts, mesurant 3,5 à 4 cm et brillants, légèrement mucronés et constitués de 6 à 14 écailles ligneuses polygonales, d'un brun clair à brun foncé, à maturité tous les deux ans, contenant de nombreuses graines ailées.

Les cônes, en forme d'œufs grumeleux, peuvent atteindre une longueur de 4 cm avec des écailles pentagonales porteuses d'une pointe écailleuse de petite taille (Figure I-6) (Camus, 1914).



Figure I-6 : Cônes fructifères de *Cupressus sempervirens* L.

I.3. Présentation des plantes bioindicatrices de pollution

I.3.1. Revue générale

Pour faire face au stress engendré par les polluants, les végétaux ont développé des stratégies d'évitement par lesquelles ils se protègent en limitant l'absorption ou l'entrée des polluants, via une régulation de l'ouverture des stomates (Leitao, 2005), car les plantes sont en permanence affectées par une gamme de stress d'origine biotique et abiotique. Dans le but d'utiliser les arbres dans la dépollution et la purification de l'air, les conifères devraient être sélectionnés pour leur habilité à retenir les poussières. À cet égard, il s'avère indispensable d'exploiter leurs caractéristiques physiologiques et morphologiques avec, comme objectif, de définir les espèces tolérantes au stress environnemental.

Les plantes supérieures sont des organismes sédentaires qui offrent des avantages uniques pour la surveillance in-situ et le dépistage des effets de l'exposition aux contaminants du sol. Ce sont donc d'excellents indicateurs des effets des produits chimiques environnementaux (Monteiro et al., 2008). Les plantes sont affectées en permanence par un éventail de facteurs induisant un stress d'origine biotique et abiotique (Pavlikova et al., 2008).

Quand les plantes sont cultivées dans des zones contaminées, des métaux traces peuvent s'accumuler à un niveau toxique par l'intermédiaire des racines et des feuilles (Bi et al., 2009). L'absorption foliaire des émissions atmosphériques de métaux lourds est également identifiée comme une voie importante de contamination par ces métaux dans les plantes (Bernal et al., 2007). Selon Zayed et al., (1991), les conifères sont souvent considérés comme les meilleurs bio-indicateurs temporaires d'une contamination de l'environnement, car leur qualité de bois réduit le transfert latéral des polluants à travers les anneaux.

La capacité de défense biochimique constitue un indicateur de la résistance aux stress potentiels chez les arbres (Tegischer et al., 2002) et l'accumulation accrue des métabolites organiques est une caractéristique commune des plantes sous diverses contraintes biotiques ou abiotiques (Khan et al., 2000). Les solutés compatibles ont des fonctions osmoprotectives, en raison de leur structure hydrophile spécifique, préservant ainsi les fonctions biologiques végétales (Hasegawa et al., 2000).

Les processus physiologiques rapides et ceux morphologiques lents provoquant des changements dans le métabolisme des plantes, sont reliés directement ou indirectement au stress induit par les métaux (Pavlikova, 2008). Des changements du volume des chloroplastes, des mitochondries et vacuoles, la dilatation des membranes, des tubules, grana et thylacoïdes, la multinucléation, les troubles des microfibrilles de membranes, ainsi que des changements des produits de stockage ont été observés au cours de plusieurs tests sur les algues suite à un traitement aux métaux (Prasad et Strzałka, 2002).

Les plantes supérieures servent d'indicateurs de la pollution de l'air dans les zones fortement polluées où lichens et mousses sont souvent absents. Les aérosols de métaux polluent le sol et les plantes qui les interceptent, non seulement sous forme de dépôts atmosphériques mais qui accumulent également les métaux de l'air provenant du soulèvement du sol. Les métaux lourds déposés sont prélevés du sol par les plantes via le système racinaire puis transloqués vers les autres régions, à savoir les feuilles et les tiges (Mulgrew et Williams, 2000).

Les aiguilles et l'écorce du pin d'une année en cours et une précédente peuvent être considérées comme bio-indicateurs appropriés pour la pollution de l'environnement par Cd, Mn et Ni et en particulier comme bio-indicateurs de pollution atmosphérique par Cu et Zn (Samecka-Cymerman et al., 2006). Les surfaces foliaires des arbres, comme les herbes, peuvent déterminer l'importance de l'accumulation des particules. En Grèce, Sawidis et al., (1995), ont étudié une sélection d'espèces d'arbres bioindicateurs du zinc et du cuivre. Ils ont trouvé que l'espèce la plus accumulatrice de métaux possédait une surface foliaire rugueuse qui augmentait efficacement la capture et la rétention des particules.

I.3.2. Notion de biosurveillance et concepts

La biosurveillance est définie comme : l'utilisation des réponses à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement et pour en suivre l'évolution (Van Haluwyn, 2011).

Sous ce vaste terme de biosurveillance, les auteurs ont intégré quatre concepts : biomarqueur, bio-indicateur, bio-intégrateur et bio-accumulateur.

Les particules de poussières atmosphériques se retrouvent sur la surface des feuilles, soit par gravité, soit par impaction due au vent. L'évaluation de la distribution élémentaire dans la poussière adsorbée sur les feuilles ainsi que dans les tissus foliaires fait des plantes un "biosurveillant" approprié de la pollution de l'air. De plus, les altérations physiologiques des plantes peuvent également indiquer le niveau de pollution dans les zones contaminées (Ram et al., 2015).

I.3.2.1. Concept de biomarqueur

C'est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire et physiologique qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Lagadic et al., 1997 cités par Van Haluwyn, 2011).

Parmi les différents biomarqueurs utilisables chez les végétaux, on citera par exemple les modifications ultrastructurales, les mesures de la fluorescence de la chlorophylle, de l'activité photosynthétique, de la conductance stomatique, les dosages et/ou la recherche de divers

métabolites et enzymes, les indicateurs de l'intégrité membranaire, les tests de génotoxicité (Van Haluwyn, 2011).

I.3.2.2. Concept de bioindicateur

Le bio-indicateur est défini comme un simple relais faisant référence uniquement à des effets observables au niveau de l'individu se traduisant par des altérations morphologiques, tissulaires ou physiologiques. Son utilisation ne concerne, d'une part, que des polluants fortement phytotoxiques ou présents à des concentrations élevées et, d'autre part, que des végétaux sensibles. De simples observations permettent d'estimer les niveaux de pollution dans l'air, par exemple au moyen de l'évaluation des surfaces foliaires nécrosées. Ce sont les végétaux supérieurs qui sont essentiellement utilisés (Cuny et al., 2008).

I.3.2.3. Concept de biointégrateur

Le biointégrateur se situe au niveau populationnel et/ou communautaire, en appréciant la variation densitaire et/ou spécifique dans des populations ou des écosystèmes. Il prend toute sa valeur et sa fonction dans des études diachroniques (nécessité dans ce cas d'un certain temps de recul) ou synchroniques (nécessité de comparer des territoires différents pendant une période donnée). Autour de certaines sources de pollution atmosphérique, il est parfois difficile de mettre en évidence des polluants à partir de leurs seuls effets morphologiques ou tissulaires, voire même de leur accumulation. D'autre part, les modifications biologiques provoquées par des polluants peu concentrés se distinguent difficilement des fluctuations naturelles. Il est donc important de mesurer les effets au niveau des communautés, de manière à infirmer ou à confirmer les observations faites au niveau infra-individuel et individuel. Pour ce type d'étude, on pourra utiliser les végétaux supérieurs, les bryophytes et les lichens (Van Haluwyn, 2011).

I.3.2.4. Le concept de bioaccumulateur

Le concept de bio-accumulateur se distingue totalement des trois précédents car il ne constitue pas un indicateur de réaction. Dans ce cas, l'organisme utilisé sert principalement de matrice pour le dosage de différents polluants suite à des mécanismes de transfert et d'accumulation. C'est une méthode qui permet d'étudier l'imprégnation de l'environnement par les polluants et de suivre l'évolution spatiale et temporelle de cette imprégnation. Contrairement aux concepts précédents pour lesquels il est indispensable de choisir les espèces sensibles, en bioaccumulation on aura recours aux organismes les plus résistants possible afin de ne pas

perturber les phénomènes d'accumulation. On pourra utiliser, soit des végétaux supérieurs, soit des bryophytes ou des lichens (Conti et Cechetti, 2001).

La biosurveillance végétale de la qualité de l'air est une méthode qui a fait ses preuves dans de nombreux domaines d'application. Elle fait l'objet de continuelles recherches notamment pour le développement de marqueurs de plus en plus précoces et spécifiques. Elle apporte ainsi des informations fondamentales sur les impacts de la qualité de l'air en parfaite complémentarité avec les données issues des techniques d'analyse physico-chimique (Cuny, 2008).

I.4. Paramètres biochimiques utilisés dans la bioindication

I.4.1. Les pigments chlorophylliens

L'histoire de la chlorophylle est ancienne. Les mécanismes réactionnels, quant à eux sont assez récents, vu la complexité du phénomène et le dualisme photochimie et thermochimie qui interviennent. En 1910, Will Stater propose sa formule brute, Pelletier et Caventon ont isolé les chlorophylles **a** et **b** pour la première fois en 1917. Fisher en 1940, révèle sa constitution. La même année, l'utilisation de l'isotope ^{18}O a permis de savoir que l' O_2 de la célèbre équation de la photosynthèse provient de la molécule d'eau ; à ce jour, on ne sait pas comment la molécule d'eau se dissocie. La synthèse totale de la chlorophylle ne fut réalisée qu'en 1960. Et, ce n'est qu'en 1970 que trois biochimistes allemands déterminent la structure du centre actif d'une bactérie chlorophyllienne par rayons X, ce qui leur a valu le prix Nobel en 1988.

Les chlorophylles sont les pigments photosynthétiques (assimilateurs) les plus dominants chez les plantes vertes ; l'évaluation de leurs concentrations dans le système foliaire peut fournir une estimation du potentiel photosynthétique (Carter, 1998). La teneur en chlorophylles *a+b* est un indicateur important du stress chez les végétaux pour son rôle direct dans le processus photosynthétique de l'assimilation de la lumière et l'initiation dans le transport des électrons ainsi que sa bonne réponse aux stress (Gitelson et Merzlyak, 1996, Zarco-Tejada et al., 2002, Rejskova et al., 2007). Les changements de la teneur en chlorophylle dans les feuilles fournissent une indication sur la capacité photosynthétique maximale, le stade de développement de la feuille, la productivité et le stress (Gitelson et Merzlyak, 1996).

I.4.1.1. Structure de la chlorophylle

La chlorophylle **a**, de masse moléculaire 893,5, à l'état pur, se présente en aiguilles cristallines bleu sombre, sa formule brute est $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$. La chlorophylle **b**, de masse moléculaire

907,5 est vert foncé, sa formule brute est $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$. Elles sont toutes formées de quatre noyaux pyrrole I, II, III, IV liés entre eux. Un cycle cyclopentanone est accroché au noyau III. Toutes les molécules contiennent un groupe dérivé du méthanol et un groupe dérivé d'un alcool à vingt atomes de carbone, le phytol (Figure II-1). Ce sont donc des esters de méthanol et de phytol. Après libération de ces deux alcools par hydrolyse alcaline, il reste l'ensemble tétrapyrrolique lié au magnésium, ou chlorophylline. Une enzyme présente dans les cellules végétales, la chlorophyllase, catalyse le décrochement du seul phytol et laisse une chlorophyllide, étape également de la synthèse des chlorophylles (Hopkins, 2003 ; Weinman et Méhul, 2004).

Les chlorophylles **a** et **b** sont toutes deux vertes mais leur spectre d'absorption est légèrement différent. La plupart des végétaux supérieurs contiennent environ deux fois plus de chlorophylle **a** que de chlorophylle **b** (Lehninger, 1989). L'action des polluants, même à faible dose, se manifeste, même avant l'apparition de symptômes visibles, par des modifications dans la proportion des pigments chlorophylliens. Il y a là un moyen de suivre les effets d'une pollution par dosage de ces pigments.

La molécule de la chlorophylle est constituée de deux moitiés, une tête formée d'une porphyrine et en longue queue d'hydrocarbures ou phytol. Une porphyrine est un groupement cyclique tétrapyrrolique, constitué de quatre noyaux pyrrole contenant d'un atome d'azote et disposé en cycle. Les porphyrines sont des composés ubiquistes dans les organismes vivants ; elles constituent le groupement hémique de l'hémoglobine des mammifères ainsi que des pigments photosynthétique et respiratoires, les cytochromes. Dans la chlorophylle, le pigment phytol, un alcool à 20 atomes de carbone est relié par une liaison ester au noyau de la porphyrine. Cette longue queue liposoluble d'hydrocarbures est un dérivé de l'isoprène, molécule à 5 atomes de carbone. L'isoprène est le précurseur d'une foule de molécules importantes, comprenant d'autres pigments comme les carotènes (Hopkins, 2003).

La (Figure II-1) montre comment s'adapte la structure de la chlorophylle **a** à sa fonction biologique. Le système à 5 noyaux intensément coloré, qui lui-même forme un plus grand anneau autour du Magnésium, dote la molécule d'un pouvoir d'absorption de la lumière ; Mg^{2+} provoque la formation d'agrégats de chlorophylle qui facilitent la capture de la lumière et la longue chaîne latérale hydrophobe non seulement ancre mais aussi oriente la molécule de chlorophylle dans la bicouche lipidique de la membrane (Lehninger, 1989).

L'action des acides décroche le magnésium et les composés obtenus sont des phéophytines. Les noyaux pyrroliques possèdent de courtes chaînes latérales. Les chlorophylles **b**, **c**, **d**, **e** et la bactériochlorophylle ne diffèrent de la chlorophylle **a** que par la nature de ces courtes chaînes; ainsi, la chlorophylle **b** possède un groupe – CHO sur le noyau pyrrole, à la place d'un – CH₃. De telles différences entraînent aussi d'importantes différences dans les spectres d'absorption de la lumière. L'ensemble tétra-pyrrolique de la molécule est plan: il a environ 1,5 nm de côté et son épaisseur est un peu inférieure à 0,4 nm. Il forme ce que l'on appelle parfois la "tête" de la molécule; le phytol en est la "queue", d'une longueur de 1,5 nm (Weinman et Méhul, 2004).

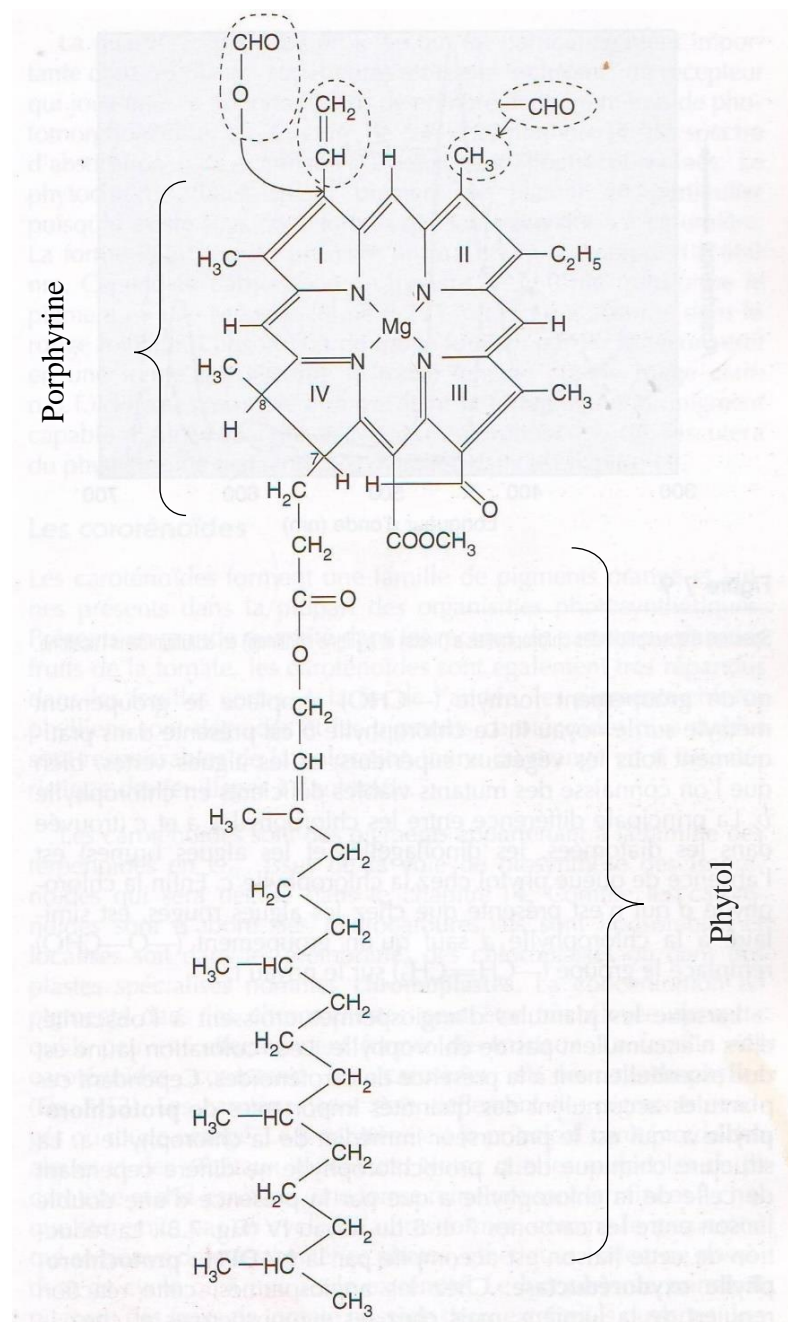


Figure I-7 : Structure de la molécule de chlorophylles **a** et **b** (Hopkins, 2003).

La molécule de chlorophylle comprend un groupe tétrapyrrolique hydrophile lié à un atome de magnésium central (Figure I-7) (Hopkins, 2003). Les végétaux verts possèdent deux chlorophylles, la chlorophylle **a** et la chlorophylle **b**, qui se distinguent par une courte chaîne latérale portée par l'anneau pyrrolique (Figure I-8). Les chlorophylles sont généralement combinées à des protéines (chromoprotéines) dont elles constituent les groupements prosthétiques (Voet et Voet, 1998).

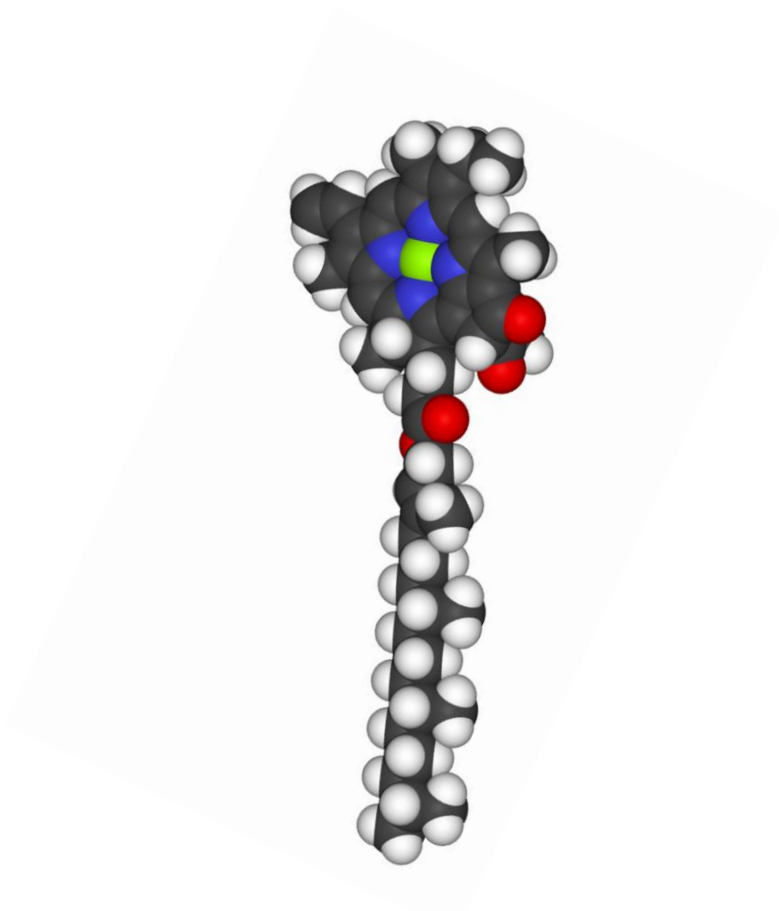


Figure I-8 : Structure tridimensionnelle de la molécule de chlorophylle,
(en vert le magnésium, en bleu l'azote et en rouge l'oxygène)

a). Propriétés optiques de la chlorophylle

La richesse des molécules de chlorophylles en doubles liaisons conjuguées entre les atomes de carbone et d'azote, et doubles liaisons séparées par une seule liaison simple ($=C-C=$ ou $=C-N=$), leur communique une intense coloration. En solution dans l'éther, l'acétone ou le méthanol, la chlorophylle **a** est bleu-vert alors que la chlorophylle **b** est vert-jaune. Ces pigments possèdent deux bandes d'absorption intense. L'une concerne les radiations bleues

(420 – 480 nm), commune à tous les pigments tétrapyrroliques (bande de Soret) ; l'autre se situe dans la partie rouge du spectre (640 – 680 nm).

Leurs spectres montrent l'importance de l'absorption des radiations visibles dans le bleu et le rouge. Dans les chloroplastes où les chlorophylles sont concentrées en agrégats, on observe un décalage des maximums d'absorption vers les grandes longueurs d'onde. L'agrégation des molécules de chlorophylles entre elles et avec d'autres molécules, en complexes colloïdaux, s'accompagne en effet d'un déplacement des maximums d'absorption de 10 à 15 nanomètres vers les grandes longueurs d'onde. Les solutions colloïdales aqueuses de chlorophylles présentent un déplacement du même ordre. Une partie de la diffusion de la lumière par les cellules végétales est due à un tel état d'agrégation. Les solutions de chlorophylles présentent une belle fluorescence rouge correspondant à une émission de radiations de plus grande longueur d'onde que celle de la lumière absorbée. Cette fluorescence est diminuée par l'addition de quinone qui joue le rôle d'extincteur (Weinman et Mehul, 2004).

I.4.1.2. Le chloroplaste

Le chloroplaste est l'organite qui effectue la fonction de photosynthèse. C'est un producteur d'énergie métabolique, il contient son propre système génétique et se multiplie par division. En plus, il effectue plusieurs tâches cruciales, notamment celle de transformer par photosynthèse le CO₂ en glucides. Il synthétise des acides aminés, des acides gras et des composants lipidiques de ses membranes. Il peut aussi réduire le nitrite (NO₂⁻) en ammoniac (NH₃), étape essentielle de l'incorporation d'azote dans les composés organiques (Cooper, 1999 ; Karp, 2004).

Bien que les feuilles soient les organes végétaux principaux optimisés pour la photosynthèse, les chloroplastes actifs sont abondants dans de nombreux autres organes comme les pétioles, les rameaux, les tiges et même les fleurs et les racines, principalement conçu pour d'autres fonctions (Aschan et Pfan, 2003 cités par Levizou et Manetas, 2006).

II.4.1.3. Structure du chloroplaste

Les chloroplastes sont de grands organites (5 à 10 µm de long) possédant une membrane double appelée enveloppe chloroplastique, constituée d'une membrane externe et d'une membrane interne (Figure I-9). Ils comportent en outre un troisième système membranaire intérieur, la membrane du thylakoïde ; elle forme un réseau de disques aplatis, les thylakoïdes, souvent rassemblés en pile appelée granum. Ces systèmes membranaires partagent le

chloroplaste en trois compartiments internes : l'espace intermembranaire, le stroma et la lumière du thylakoïde. Ce qui confère au chloroplaste une anatomie complexe. Et c'est au travers de la membrane thylakoïde que se forme le gradient d'électrons qui entraîne la synthèse d'ATP dans le stroma (Cooper, 1999).

Comme les mitochondries, les chloroplastes ont une double membrane qui entoure un milieu intérieur : le stroma. A la différence des mitochondries, ils possèdent de nombreux saccules ou thylakoïdes empilés. La membrane externe, perméable, est séparée par un mince espace de la membrane interne, moins perméable, pourvue de multiples protéines de transport. Dans le stroma, on caractérise un ADN et de petits ribosomes chloroplastiques, ainsi que de l'amidon et des plastoglobules lipidiques (Figure I-9) (Hopkins, 2003).

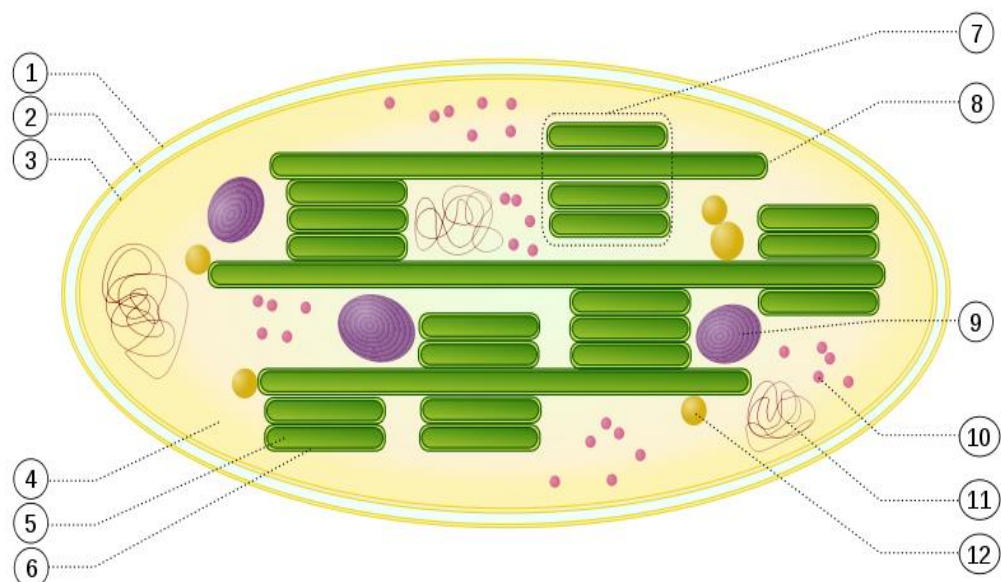


Figure I-9 : Ultrastructure schématique d'un chloroplaste.

1. Membrane externe ; 2. Espace intermembranaire ; 3. Membrane interne (1+2+3: enveloppe) ; 4. Stroma (fluide aqueux) ; 5. Lumen du thylakoïde ; 6. Membrane du thylakoïde ; 7. Granum (thylakoïdes accolés) ; 8. Thylakoïde inter-granaire (lamelle) ; 9. Grain d'amidon ; 10. Ribosome ; 11. ADN plastidial ; 12. Plastoglobule (gouttelette lipidique).

Les chlorophylles sont localisées dans les membranes internes des chloroplastes des cellules végétales, formant des thylacoïdes à la cohésion desquels les chlorophylles participent. Alors que la dispersion des molécules de chlorophylles dans un solvant confère à leurs solutions une répartition moléculaire homogène, le statut du pigment *in vivo* est beaucoup plus compliqué et très hétérogène, on appelle holochrome l'état biologique du pigment. Des molécules de

chlorophylles identiques entre elles dans leur structure peuvent donc être topo-chimiquement distinctes, d'autres sont associées par deux, en dimères. Non seulement les chlorophylles sont concentrées dans des organites cellulaires spécialisés, les chloroplastes, mais, de plus, on ne les trouve que dans des structures membranaires situées à l'intérieur de ces organites (Voet et Voet, 1998).

I.4.1.4. La photosynthèse

Approximativement, 40 % de la matière sèche végétale est constituée de carbone fixé par photosynthèse. Ce processus est vital pour la croissance, le développement et la survie de toutes les plantes durant leur cycle de vie. De ce fait, la vie sur Terre est en général, totalement dépendante de l'activité photosynthétique. Les feuilles sont les organes spécialisées permettant aux plantes d'intercepter la lumière nécessaire à la photosynthèse (Karp, 2004 ; Lambers et al., 2008).

La photosynthèse est donc un processus complexe au cours duquel les plantes possédant de la chlorophylle synthétisent de la matière organique à partir du gaz carbonique et d'eau. Dans ce processus, il se forme en règle générale de l'oxygène moléculaire. Parmi les phénomènes qui dépendent de la lumière, la photosynthèse occupe une place privilégiée dans la mesure où l'énergie de rayonnement absorbée est utilisée à la synthèse de composés organiques à haute teneur en énergie à partir de produits minéraux simples. Il s'agit d'un processus endergonique, lié à une augmentation d'énergie libre (Hopkins, 2003).

La lumière est capturée par l'ensemble des chloroplastes qui se situent à proximité de l'air et pas loin des tissus vasculaires et conducteurs de l'eau et des produits de la photosynthèse. Chez la plupart des plantes, l'assimilation du CO₂ a lieu à travers les pores à la surface de la feuille, appelés stomates, qui s'ouvrent ou se referment rapidement en cas de besoin de la plante. Une fois à l'intérieur de la plante, le CO₂ diffuse à travers les espaces intercellulaires vers le site de la carboxylation dans le chloroplaste des végétaux C₃ ou dans le cytosol des végétaux C₄ (Karp, 2004 ; Lambers et al., 2008).

I.4.1.5. Effets de la pollution de l'atmosphère sur la chlorophylle

Tous les polluants atmosphériques déposés et retenus par le système foliaire sont transformés à l'intérieur de la plante et affectent sa respiration et sa photosynthèse. Le changement de la teneur des feuilles en chlorophylle est un des indicateurs relatifs de la vigueur des plantes et de

la qualité de l'environnement. Beaucoup d'influence de l'environnement délétère que l'inhibition croissance des plantes, allant des carences en éléments nutritifs à la pollution anthropogénique, peut entraîner une diminution de la teneur en chlorophylle des feuilles. À son tour, les propriétés optiques des feuilles dans le spectre visible sont fortement dépendantes de la chlorophylle et peuvent donc servir d'indicateurs relatifs de la vigueur de la plante et de la qualité environnementale (Carter et Spiering, 2002).

I.4.2. La proline

Les acides aminés sont des métabolites énergétiques dont beaucoup sont des nutriments indispensables. Les protéines sont constituées de 20 acides aminés "standards", ces substances sont des α -aminoacides car, à l'exception de la proline, ils présentent un groupe amine primaire et un groupe acide carboxylique substitué sur le même atome de carbone. Ils sont amphotères et sont appelés ampholytes (amphotériques électrolytes) (Voet et voet, 1998). La disponibilité des précurseurs des acides aminés est limitante de la réponse au stress (Flores et Galston, 1984). La proline est un osmolyte compatible, non chargé à pH neutre et très soluble dans l'eau. De plus, à des concentrations élevées, elle a peu ou aucun effet perturbateur sur les interactions macromolécules (Kishor et al., 2005).

I.4.2.1. Production naturelle de la proline

En plus de son rôle en tant qu'osmolyte pour l'ajustement osmotique, la proline contribue à stabiliser les structures sub-cellulaires telles que les membranes et les protéines, à piéger les radicaux libres, et à tamponner le potentiel redox cellulaire sous conditions de stress (Ashraf et Foolad, 2007). Elle peut également fonctionner comme un hydrotrope protéine-compatible (Srinivas and Balasubramanian, 1995), soulager l'acidose cytoplasmique et maintenir des rapports appropriés NADH / NADPH compatibles avec le métabolisme (Hare et Cress, 1997).

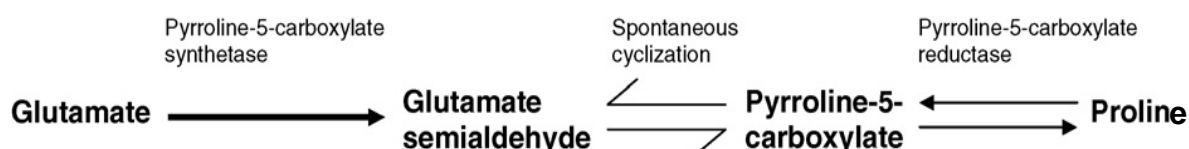


Figure I-10 : Voie de biosynthèse de la proline dans les plantes supérieures.

La proline est connue pour être un soluté compatible dans les cellules sous conditions de stress hydrique (Srinivas et Balasubramanian, 1995; Rejskova et al., 2007). Avec la glycine-bétaine, elle réduit la déformation du noyau et la condensation de la chromatine en conditions de stress

salin (Banu et al., 2009). Ce sont deux osmolytes organiques majeurs s'accumulant dans de nombreuses plantes en réponse aux températures extrêmes, aux radiations ultraviolettes et aux métaux lourds.

Chez les plantes, le précurseur de la biosynthèse prl est l'acide L-glutamique. Deux enzymes, *pyrroline-5-carboxylate synthetase* (P5CS) et *pyrroline-5-carboxylate reductase* (P5CR), jouent un rôle majeur dans la voie de la biosynthèse de la proline (Delauney et Verma, 1993) (Figure I-10 et I-11).

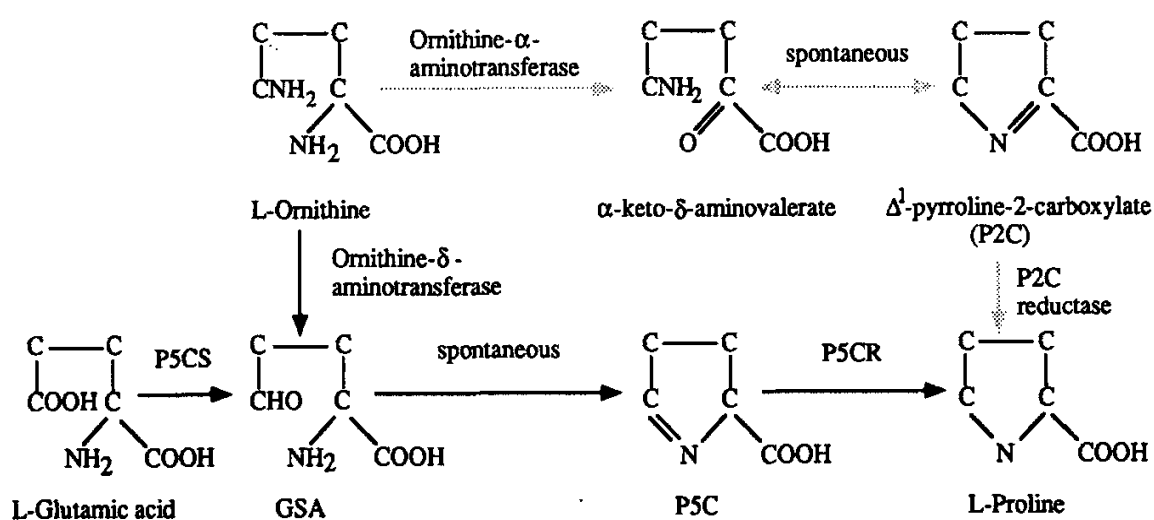


Figure I-11 : Voie de biosynthèse de la proline dans les plantes.

Une fois la contrainte retirée, la Proline est oxydée en P5C par la Proline déshydrogénase (PDH), également connue sous le nom de Proline oxydase, qui est la première enzyme de la voie de dégradation de la proline. P5C est ensuite reconverti en glutamate par l'enzyme P5C déshydrogénase (P5CDH) (Kishore et al., 2005).

I.4.2.2. Localisation de la Proline dans les plantes

Chez les plantes supérieures, la proline est synthétisée dans le cytosol soit à partir de l'acide L-glutamique, soit à partir de la L-ornithine (Pavlicova, 2008). La glutamyl kinase et la glutamyl phosphate réductase ont été proposées pour convertir le glutamate en proline-5-carboxylate. Une localisation chloroplastique de l'enzyme Pyrroline-5-carboxylate réductase a été rapportée chez le pois (Rayapati et al., 1989).

Bien que le rôle réel de la proline et de la glycine-bétaïne dans l'osmotolérance reste controversé, les deux composés ont un effet positif sur l'intégrité des enzymes et de la membrane avec un rôle dans l'adaptation et l'ajustement osmotique des plantes cultivées dans des conditions de stress (Ashraf et Foolad, 2007).

La proline joue un rôle primordial comme soluté osmorégulateur dans les plantes sujettes aux stress hyperosmotiques, principalement la sécheresse et la salinité du sol. En effet, l'accumulation de cet acide aminé peut faire partie d'une adaptation générale aux conditions environnementales défavorables (Delauney et Verma, 1993).

De nombreux autres auteurs rapportent que l'accumulation de la proline libre dans les plantes est une conséquence à une grande diversité de stress environnementaux (Hare et Cress, 1997 ; Lutts et al., 1999 ; Hong et al., 2000 ; Klotke et al., 2004 ; Kishore et al., 2005) y compris les métaux lourds (Hare et Cress, 1997 ; Pavlikova et al., 2008).

L'effet physiologique de l'accumulation de la proline peut-être exprimé dans la photosynthèse soutenue et/ou la prévention de la dégradation des protéines et des enzymes (Wang et al., 2007). La proline peut servir de source facilement disponible de carbone et d'azote équivalents, durant la restauration du stress (Hellman et al., 2000). En plus des effets stabilisateur de la proline, ceux des glucides et des protéines sur les membranes sont également acceptés (Vereyken et al., 2003).

Additionnellement à son rôle dans l'ajustement osmotique et la stabilisation des protéines, ce métabolite fournit une réserve d'azote pouvant être utilisée en condition de stress comme moyen de réduction de l'acidité ou de l'élimination de résidus (Schwakee et al., 1999). L'extrême sensibilité des processus métaboliques de synthèse et de dégradation de la proline eux-mêmes, peuvent réguler d'avantage les processus métaboliques négativement touchés par les contraintes (Hare et Cress, 1997).

I.4.2.3. Structure de la proline

La proline, un acide aminé cyclique à fonction amine secondaire, présente des contraintes conformationnelles imposées par la nature cyclique de sa chaîne latérale pyrrolidine (Figure I-12), ce qui est unique parmi les 20 acides aminés (Voet et Voet, 1998). C'est un acide aminé

non indispensable chez l'homme. Par contre, chez les végétaux, elle constitue un acide aminé indicateur du stress.

Elle semble posséder une fonction non seulement dans la sécheresse, mais aussi chez les plantes stressées aux métaux lourds (Sharma et Dietz, 2006).

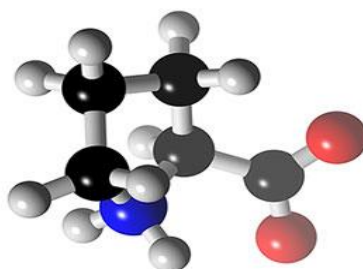


Figure I-12 : Structure de la proline tridimensionnelle
(en bleu l'azote et en rouge l'oxygène)

Basée sur ses propriétés connues, la proline peut être impliquée dans le stress des plantes aux métaux lourds par des mécanismes différents, c'est-à-dire régulation osmotique et redox, chélation des métaux et piégeage des radicaux libres. La possibilité d'une implication de la proline dans la chélation des ions métalliques est indiquée. Il a été démontré qu'elle protège le glucose-6-phosphate déshydrogénase et nitrate réductase *in vitro* contre l'inhibition induite par le Zinc et le Cadmium (Sharma et Dietz, 2006).

I.4.3. Les sucres solubles (Glucides)

Les glucides constituent une importante catégorie de solutés compatibles incluant des hexoses (principalement fructose et glucose), disaccharides (saccharose, tréhalose), alcools de sucre (inositol, mannitol) et des sucres complexes (raffinose et stachyose), qui s'accumulent au cours du stress (Jouve et al., 2004).

Les sucres jouent un rôle central dans la vie de la plante ; et sont produits par la photosynthèse, transportés dans les tissus, affectés à la respiration ou convertis en composés de stockage qui seront dégradés en glucides constitutifs (Richter, 1993 ; Loretto et al., 2001). Les alcools de sucres, chaîne linéaire de polyalcools, constituent un groupe important de solutés compatibles.

Le mannitol, comme les polyols est un osmoprotecteur qui sert de composé de stockage et d'agent rédox (Loescher, 1987).

La photosynthèse est un processus physiologique hautement sensible aux contraintes abiotiques. Par conséquent, les changements en glucides à la suite d'une exposition au stress peuvent être, dans une large mesure, causés par une photosynthèse affaiblie, ce qui n'est pas un mécanisme de défense au stress (Rejskova et al., 2007). L'accumulation des sucres solubles est un moyen adopté par les plantes en cas de stress, à fin de résister aux contraintes du milieu (Bajji et al., 1998).

Les sucres solubles associés à d'autres solutés organiques (protéines, glycine bétaine, acides organiques (malate), acides aminés...) interviennent dans le processus d'osmorégulation (Kinet et al., 1998). Selon Martinelli (2008), l'accumulation des hydrates de carbone solubles, en période de stress hydrique, est considérée comme un mécanisme très important pour l'acquisition de la tolérance à la sécheresse.

Chapitre 2

Notions de pollution atmosphérique et de spectroscopie

II.1. L'atmosphère

II.1.1. Structure de l'atmosphère

L'atmosphère est l'enveloppe essentiellement gazeuse qui entoure le globe terrestre. Son épaisseur ne peut être déterminée de façon précise. Sa limite inférieure, la biosphère continentale ou l'océan, est bien définie, mais il n'en est pas de même de sa limite supérieure. La densité de l'air décroît progressivement avec l'altitude ; aux niveaux élevés, supérieurs à 1000 km, on passe insensiblement d'un milieu gazeux au vide interplanétaire (De Parcevaux et Huber, 2007).

Le profil vertical de température définit la stratification de l'atmosphère. On distingue ainsi :

- la troposphère est la partie la plus dense de l'atmosphère, a pour altitudes inférieures à 8 km au-dessus des pôles et 18 km au dessus de l'équateur. La température y est décroissante jusqu'à 220 °K (-53,15 °C) au-dessus des pôles, 190 °K (-83,15 °C) au dessus de l'équateur. Le gradient moyen de température est de l'ordre de -6.5 °K.km^{-1} ($-279,65 \text{ °C.km}^{-1}$) ;
- la stratosphère peut atteindre une altitude allant jusqu'à 50 km. La température est d'abord constante puis croît jusqu'à environ 270 °K (-3,15 °C), du fait de l'absorption par l'ozone et par l'oxygène moléculaire du rayonnement solaire ultraviolet. L'existence de cette couche d'inversion est une caractéristique essentielle de la Terre (Sportisse, 2008 ; Behra, 2013).
- La mésosphère jusqu'à 85–90 km. La température décroît jusqu'à 170 °K (-103,15 °C) (le point le plus froid de l'atmosphère), du fait de la raréfaction de l'ozone et de l'oxygène ;
- la thermosphère et l'ionosphère qui se trouvent jusqu'à environ 150 km. La température augmente et devient fortement dépendante de l'activité solaire. Les rayonnement UV dissocient N_2 et O_2 et ionisent les molécules. L'air devient un gaz raréfié : la densité est ainsi de l'ordre de 10^{19} molécule m^{-3} à 100 km contre 10^{25} molécule m^{-3} au niveau de la mer (Sportisse, 2008).

II.1.2. Phases de la matière atmosphérique

La matière atmosphérique est composée de gaz et de matière condensée : eau sous forme liquide (gouttes de nuages et de pluie) ou solide (glace, neige) et aérosols liquides ou solides. La taille des corps atmosphériques joue un rôle important pour les propriétés radiatives et le

lessivage par la pluie. Le diamètre d'une molécule de gaz est de l'ordre de l'Angström (Å), celui d'une goutte de nuage d'une à quelques dizaines de micromètres et celui d'une goutte de pluie de l'ordre de 0.1 mm (Tableau II-1). En première approximation, le diamètre de l'aérosol va de quelques nanomètres à plusieurs dizaines de micromètres, pour les aérosols formés à partir de grains de sable. Le diamètre de l'aérosol urbain est de l'ordre du micromètre (Sportisse, 2008).

Tableau II-1 : Tailles caractéristiques des divers corps atmosphériques

| Corps | Taille |
|----------------------|---------------|
| Molécule gazeuse | 0,1 nm |
| Aérosol « fin » | 1 nm–1 µm |
| Aérosol « grossier » | 10–20 µm |
| Goutte de nuage | 10–50 µm |
| Goutte de pluie | 0,1 mm |

II.2. La pollution de l'atmosphère

Par pollution de l'air, on entend la contamination de l'environnement intérieur ou extérieur par un agent chimique, physique ou biologique qui modifie les caractéristiques naturelles de l'atmosphère. Les polluants les plus nocifs pour la santé publique sont notamment les matières particulaires, le monoxyde de carbone, l'ozone, le dioxyde d'azote et le dioxyde de soufre (O.M.S, 2015). Elle est causée par la présence de substances étrangères qui peuvent être sous différentes formes comme la poussière, la fumée, la brume de fumée. Ces polluants causent des changements indésirables dans les caractéristiques physiques, chimiques et biochimiques de l'air (Bhardwaj 2012).

C'est donc la résultante de multiples facteurs : croissance de la consommation et de la production d'énergie, développement des industries extractives, métallurgiques et chimiques, du trafic routier et aérien, de l'incinération des ordures ménagères, des procédés de production du ciment, des effluents industriels multiples, etc.

II.2.1. L'air et le vent

L'air est un mélange d'entités qui ne sont pas toujours réparties de façon homogène dans l'espace. Ces entités peuvent se déplacer indépendamment des mouvements globaux de l'atmosphère. En général, les transferts spontanés, ou ceux d'autres entités comme la chaleur ou

la quantité de mouvement se produisent d'une zone de haute concentration vers une zone de faible concentration (de Parcevaux et Huber, 2007).

Le vent exerce sur toute surface fixe située dans l'atmosphère une force de pression, dite pression dynamique, proportionnelle au carré de sa vitesse et fonction de sa direction par rapport à cette surface. Pour une paroi perpendiculaire à la direction du vent, les pressions exercées sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau II-2 : Vitesse et pression du vent (de Parcevaux et Huber, 2007).

| Vitesse du vent | | Pression dynamique Kg.m ⁻² | Equivalent Beaufort |
|-------------------|--------------------|--|-----------------------|
| m.s ⁻¹ | Km.h ⁻¹ | | |
| 1 | 3,6 | 0,0 | 1 : très légère brise |
| 5 | 18 | 1,6 | 3 : petite brise |
| 10 | 36 | 6,3 | 5 : bonne brise |
| 20 | 72 | 25,0 | 8 : coup de vent |
| 30 | 108 | 56,3 | 11 : violente tempête |
| 40 | 144 | 100,0 | 12 : ouragan |

1 Kg.m⁻² = 9,807 Pa

Dans le domaine de pollution de l'air, les vents sont responsables du transport des masses d'air chargées de polluants et de particules d'un point à l'autre de la planète, aussi bien dans l'atmosphère que dans l'hydrosphère, sur des distances variables.

Au cours de ce transport, les aérosols constituent des vecteurs d'éléments chimiques entre les différents compartiments de l'environnement, notamment via les précipitations (Behra, 2013). Les conditions de transport des particules sont très fortement liées aux conditions météorologiques, ainsi qu'à leur taille et leur composition physico-chimique. Les métaux sont émis sous forme de très fines particules qui sont transportées par le vent et finissent par retomber au sol ou sur un plan d'eau à des distances très variables de leur lieu d'émission, pouvant aller jusqu'à des milliers de kilomètres (Gombert, 2005).

II.2.2. Contamination et pollution de l'atmosphère

La pollution de l'atmosphère s'est clairement manifestée à l'échelle locale des agglomérations urbaines et/ou industrielles. Outre les panaches de fumées ou odeurs perceptibles provenant des sources industrielles et domestiques, les conditions géographiques et météorologiques défavorables à la dispersion des polluants se sont révélées à l'origine d'accidents aigus de cette

forme de pollution. A long terme, des atteintes écologiques se manifestent dans les environnements industriels, notamment par des altérations forestières et/ou animales dues à la pollution atmosphérique acido-particulaire, ou à la pollution fluorée. La pollution de l'atmosphère ne connaît pas de frontières ; et les émissions polluantes sont transportées à des distances variables par les mouvements des masses d'air et les nuages (ADEME, 2008).

II.2.2.1. Principales espèces polluantes

Les pollutions atmosphériques se distinguent selon les espèces considérées. On peut citer notamment :

- le dioxyde de soufre (SO_2), sous forme gazeuse, lié à la combustion de charbon ou de fuels ;
- les espèces liées à la photochimie : l'ozone (O_3) et les oxydes d'azote (NO et NO_2), les composés organiques volatiles (COV), sous forme de gaz ;
- les métaux lourds (plomb, cadmium, zinc) liés à des activités industrielles, sous forme de particulaires ;
- le mercure (Hg) sous forme gazeuse ou dissoute ;
- les aérosols composés d'un mélange de sulfate (SO_4^{2-} particulaire, d'ammonium (NH_4^+ particulaire), nitrate (NO_3^- particulaire), composés organiques secondaires, sable, sels de mer...
- les radioéléments, d'origine naturelle, comme le radon (Rn), liés à des essais nucléaires, de radioéléments "militaires" tel que le strontium (Sr), à des accidents sur les centrales nucléaires utilisant l'iode (I) et césium (Cs) ou à des procédures de fonctionnement dans les centrales utilisant le krypton (Kr) ;
- les gaz à effet de serre comme le dioxyde de carbone (CO_2), le méthane (CH_4), le protoxyde d'azote (N_2O), etc. ;
- le monoxyde de carbone (CO) ;
- les polluants organiques persistants (POP), qui sont des chaînes organiques complexes avec des temps de vie longs tels que pesticides et dioxines (Sportisse, 2008).

II.2.3. Contribution particulière des cimenteries à la pollution atmosphérique

Actuellement, les soucis environnementaux globaux courants sont dirigés vers les émissions de gaz qui peuvent contribuer aux phénomènes de pluies acides et du réchauffement global, ainsi qu'à d'autres émissions traces possibles de composés pouvant être identifiés comme menace potentielle à la santé humaine au voisinage des sites industriels (Kerton et al., 1997).

La pollution par la cimenterie peut être identifiée à la fois comme particules (poussières) et émissions de gaz (Kerton et al., 1997). La poussière est générée à tous les stades du procédé de production du ciment depuis l'exploitation de la roche au niveau de la carrière, son broyage, son homogénéisation, sa cuisson, son ensachage jusqu'à sa distribution (Debell, 1997).

Les gaz de combustion chauds et empoussiérés proviennent du four de process et de son nettoyage et, les fines traces résiduelles telle que la poussière, sont invariablement dispersées via la haute cheminée et répandues sur de larges aires (Kerton et al., 1997). Il existe cependant, deux types de sources de poussières : les sources ponctuelles comme la cheminée ou la fente d'exhalation ; et les sources diffuses, comme la carrière d'exploitation en plein air, le stockage du produit brut et son broyage. L'émission dépend de la moiteur contenue dans la matière du ciment ainsi que des conditions météorologiques (Debell, 1997).

II.2.4. Notions d'écotoxicologie et de dépérissement

II.2.4.1. L'écotoxicologie

L'écotoxicologie se définit de façon concise comme étant "la science qui traite de l'impact des composés chimiques sur les écosystèmes". Cette science qui intègre la chimie, la toxicologie et l'écologie, a fait ses premiers pas au cours des années 1970 et au début de l'année 1980, où les concepts et les méthodes propres à l'écotoxicologie se sont peu à peu développés.

La définition originale de l'écotoxicologie est attribuée à Truhaut (1977) : "la branche de la toxicologie qui étudie les effets toxiques provoqués par les substances naturelles ou les polluants d'origine synthétique sur les constituants des écosystèmes animaux, y compris l'homme, végétaux et micro-organismes dans un contexte intégré".

L'écotoxicologie apporte des réponses scientifiques précises sur les effets des polluants sur les écosystèmes. Depuis son apparition dans les années 1970, la discipline n'a cessé de se développer, se complexifier, au point qu'il est aujourd'hui difficile d'en avoir une vision d'ensemble (Ramade, 2007).

II.2.4.2. Le dépérissement

Contrairement à la sénescence, le dépérissement est une régression qui survient avant que l'arbre ait eu le temps de compléter sa phase d'expansion. En d'autres termes, les arbres engagés dans une phase de régression sont considérés comme dépérissants lorsque les structures mortes en périphérie de la cime n'ont pas atteint le stade d'unités minimales. Ceci

peut être une réaction à un manque d'accès aux ressources de son milieu, ou à une maladie ou tout autre facteur externe qui l'affaiblit. L'arbre dépérissant n'a pas atteint le stade d'arbre sénéscent et il est possible qu'un ajustement des conditions du milieu puisse encore l'aider à reprendre sa phase d'expansion (Millet, 2012).

Selon Flot et al., (2007) cités par Nichan (2015), Le dépérissement est un processus évolutif, faisant intervenir de multiples causes qui agissent en synergie et pouvant être purement naturelles, humaines ou une combinaison des deux. Il peut être traduit pour l'arbre par une perte de vitalité progressive et des mortalités d'organes pérennes, tels que branches, rameaux et notamment les feuillus où des pertes prématurées d'aiguilles chez les conifères sont remarquables.

Les forêts sont négativement affectées par différents facteurs qui se propagent sur une grande échelle temporelle et spatiale induisant des pressions directes ou indirectes sur son état (Requardt et al., 2007).

Les symptômes des dépérissements forestiers peuvent être provoqués par des constellations de conditions défavorables et/ou d'agressions fortes et différentes. Les arbres sont capables de réagir aux influences exercées par divers agents par des signes apparaissant principalement sur leurs parties aériennes. Ces symptômes concernent les aiguilles et feuilles et se traduisent par une chute prématurée (défoliation précoce), un éclaircissement, dénudement de rameaux, de parties ou de la totalité de la couronne, une décoloration jaunâtre et blanchâtre (chloroses), brunâtres, flétrissement, anomalies de croissance, déformation (Hartman et al., 1991),.

II.3. Principaux contaminants de l'atmosphère

II.3.1. Les métaux

II.3.1.1. Généralités

Parmi les 90 éléments présents dans la croûte terrestre, environ 80 % sont des métaux et 60 % sont des métaux lourds dont le poids spécifiques est supérieurs à 5 g.cm^{-3} (Sharma et Dietz, 2006). Dans l'industrie, les métaux sont obtenus à partir de l'exploitation minière, du recyclage de déchets et débris de métaux dérivant originellement de sources géologiques (Alloway et Ayres, 1997). En général, les métaux toxiques proviennent de la combustion du charbon, pétrole, ordures ménagères et de certains procédés industriels particuliers. Ils sont principalement issus des usines d'incinération de déchets et du trafic automobile (Person et al., 1993). A l'échelle mondiale, les émissions d'origine anthropique dépassent celles d'origine

naturelle pour de nombreux éléments tels que le plomb, le zinc, l'arsenic et le mercure (Gombert, 2005).

II.3.1.2. Interférence et toxicité des polluants métalliques avec les plantes

Parmi les grandes variétés de polluants modernes interférant avec le métabolisme de la plante à différents stades, les métaux lourds sont les polluants non biodégradables les plus communs signalés à des concentrations élevées dans le monde (Mallick et Rai, 2001). En dehors du sol, les plantes peuvent également prendre des métaux directement à partir de l'atmosphère. Certains polluants atmosphériques déposés sur la surface foliaire peuvent être absorbés par les feuilles puis transloqués vers les parties non exposées du végétal. Cette voie peut contribuer significativement à l'accumulation des métaux dans les plantes, ceci dépend du type de métaux et de la plantes (Bi et al., 2009).

Comme organismes sédentaires, les plantes supérieures offrent l'unique avantage pour la biosurveillance in situ de leur exposition aux effets des contaminants. Elles ont été reconnues comme excellents indicateurs des effets chimiques de l'environnement (Monteiro et al., 2008). Quand elles se développent en zones polluées, elles peuvent accumuler des niveaux toxiques d'éléments traces via leurs racines et/ou feuilles (Bi et al., 2009). L'absorption foliaire des émissions atmosphériques de métaux lourds est également identifiée comme une voie importante de contamination par ces métaux dans les plantes (Bernal et al., 2007).

Dans les feuilles, la plus grande concentration de métaux est enregistrée à la base du trichome. Cependant, le mésophile semble jouer un rôle important dans la capacité d'hyperaccumulation chez *Arabidopsis halleri* (Küpper et al., 2000). Dans la plupart des régions, la phytotoxicité des métaux lourds peut être attribuée à leur accumulation, notamment dans les compartiments plasmiques des cellules, tels que cytosol et stroma du chloroplaste (Brune et al., 1995).

La membrane plasmique est la première cible des métaux. Ainsi seulement, après passage de la membrane, le métal peut interagir avec les autres composants cellulaires. Généralement, il y a deux mécanismes pour les changements induits par le métal en fonction de la membrane plasmique et qui sont : diriger les effets sur les groupes sulfhydryles des constituants de la membrane et la peroxydation des lipides par les radicaux libres (Prasad et Strzałka, 2002).

Une augmentation globale des teneurs en métaux lourds constitue une menace envahissante aux écosystèmes naturels (Choudhary et al., 2007). La meilleure façon de déterminer l'étendue et la menace de contamination dans l'environnement pour les organismes vivants est par la mesure

des niveaux de contaminants dans les organismes eux-mêmes (Fernandez et al., 2000) ; parce que les symptômes visibles sur le feuillage des arbres peuvent être utilisés comme diagnostic de stress (Günthardt et Vollenweider, 2007).

Il existe une multitude de facteurs régulant la disponibilité des métaux dans les écosystèmes : pH, potentiel redox, présence d'anions et de cations, acides aminés, composés soufrés, ligands complexant, carbone organique, salinité, etc. L'addition séquentielle de métaux influe également sur la toxicité. Tous ces facteurs peuvent avoir une incidence négative sur la disponibilité des métaux et donc induire leur toxicité (Prasad et Strzałka, 2002).

L'assimilation de quantités phytotoxiques de métaux par les plantes supérieures ou les algues peut induire l'inhibition de nombreuses enzymes et augmenter l'activité d'autres (Van Assche et Clijsters, 1990). Elle peut également causer l'inhibition de la croissance, des dommages au niveau des racines ou des chloroses (Pavlikova et al., 2008). Les symptômes de toxicité observés dans la plante peuvent être dus à un ensemble d'interactions au niveau cellulaire (Hall, 2002).

Une des conséquences de l'exposition aux métaux lourds est la détérioration du bilan hydrique de la plante (Rauser et Dumbroff, 1981; Poschenrieder et al., 1989; Barcelo et Poschenrieder, 1990). La toxicité peut résulter de la liaison des métaux aux groupes sulfhydriles dans les protéines, entraînant l'inhibition de l'activité ou la perturbation de la structure (Van Assche et Clijsters, 1990). L'absorption excessive d'éléments actifs d'oxydoréduction par les plantes entraîne une destruction oxydative (Ducic et Polle, 2005).

Les changements de volume des vacuoles, mitochondries et chloroplastes, la dilatation des membranes, tubules, grana et thylacoïdes, la multinucléation, les perturbations dans les microfibrilles de membrane et les changements dans les produits de stockage ont été observés chez plusieurs algues après un traitement aux métaux (Prasad et Strzałka, 2002).

En outre, l'ATPase de la membrane plasmique, responsable du pompage électrogène et le transport des éléments nutritifs s'est avérée être fortement affectée par les métaux. L'ATPase H^+ est une enzyme liée au phosphate et joue un rôle important dans la régulation du déploiement des H^+ à travers la membrane cellulaire, afin de maintenir le pH cytoplasmique à la neutralité. Par conséquent, l'inhibition de l'activité de l'ATPase H^+ mène à l'acidification du cytoplasme et la perturbation du gradient des H^+ dans le plasma ainsi que la membrane des thylacoïdes,

conduisant à une défaillance de l'appareil photosynthétique et des autres processus cellulaires (Prasad et Strzałka, 2002).

En réponse à l'accumulation excessive d'ions métalliques, les plantes ont développé des mécanismes variés pour maintenir et régler l'homéostasie fonctionnant à la fois aux niveaux intra et extracellulaires (Pavlikova et al., 2008). Les cations polyvalents peuvent interagir avec les parois cellulaires plus que les cations monovalents en raison de leur forte attraction électrostatique pour les sites de charges négatives de la paroi. Il doit exister un mécanisme de régulation en amont de la membrane plasmique cellulaire de la feuille dirigeant les métaux à leur emplacement définitif dans la plante. La paroi cellulaire pourrait jouer un rôle dans ce mécanisme de régulation (Cosio et al., 2004).

Lors de l'exposition à des métaux, souvent les plantes synthétisent un ensemble de divers métabolites qui s'accumulent à des concentrations millimolaires, particulièrement des acides aminés spécifiques, tels que proline et histidine, des peptides tels que glutathion et phytochélatines, des amines de spermine, putrescine, nicotianamine... (Sharma et Dietz, 2006).

La tolérance au métal peut être définie comme la capacité d'un organisme pour survivre à la toxicité des métaux au moyen de propriétés intrinsèques, pouvant inclure la possession d'une membrane cellulaire imperméable, changer le taux d'absorption du métal ou son élimination, la capacité de lier ou séquestrer les métaux et les différences de sensibilité des enzymes à l'inhibition induite par les métaux (Mallick et Rai, 2002).

Les plantes possèdent plusieurs mécanismes cellulaires qui pourraient être impliqués dans la détoxification des métaux lourds et donc la tolérance au stress métallique. L'efflux des ions à la membrane plasmique ou le transport dans la vacuole sont deux façons de réduire les niveaux de métaux toxiques dans le cytosol, et sont donc potentiellement d'importants mécanismes de tolérance de métaux lourds (Hall, 2002).

Elles possèdent également des mécanismes d'homéostasie cellulaires pour réguler la concentration des ions métalliques à l'intérieur de la cellule afin de minimiser les dommages éventuels qui pourraient découler de l'exposition à des ions métalliques non essentiels (Benavides et al., 2005).

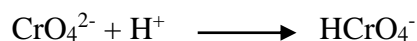
Les mécanismes moléculaires proposés pour l'explication de la tolérance métallique chez la plante par désintoxication ont donné lieu à la fixation des éléments toxiques par la paroi

cellulaire, leur compartimentation dans les vacuoles et des mécanismes d'adaptation d'ordre métabolique et enzymatique (Sanita di Toppi et Gabbrielli, 1999; Schützendübel et Polle, 2002; Sharma and Dietz, 2006). En outre, la compartimentation vacuolaire de concentrations excédentaires de métaux semble être une forte composante de la stratégie de détoxification métallique de la cellule (Dietz et al., 2001).

II.3.1.3. Les métaux lourds dans le ciment

Le ciment contient aussi des métaux lourds à l'état de traces de sources naturelles du matériau brut. Les composés volatils, comme les composés de mercure, de plomb et de thallium peuvent s'évaporer pendant le processus d'incinération puis précipiter dans la partie de refroidissement du four et peuvent se retrouver dans les poussières. Alors que les composés les moins volatils s'incorporent au clinker durant le processus d'incinération (Stephan et al., 1999). Selon Wang et Vipulanandan (2000), en plus de la silice, le ciment contient des métaux lourds tel que le chrome, utilisé et ajouté dans le but de retarder le temps de durcissement et la force de pression du ciment.

L'addition de Cr(VI) au ciment Portland augmente le temps de durcissement du ciment, en interférant avec le processus normal d'hydratation. L'immobilisation du Cr(VI) par solidification et stabilisation du ciment est atteinte par la formation d'un chromate de calcium complexe (CaCrO_4) avec une faible solubilité. Le processus de l'hydratation du ciment est affecté en présence de Cr(VI) parce qu'une partie des Ca^{2+} du ciment réagissent avec CrO_4^{2-} . Cette réaction entre Ca^{2+} et Cr(VI) retarde la pose du ciment. En plus du K_2CrO_4 non traité lessivé lors de l'essai TCLP (toxicity characteristics leaching procedures), CaCrO_4 dissocié réagit avec l'ion hydrogène selon la réaction suivante :



Cette réaction explique le recouvrement du Cr(VI) pendant le TCLP. L'analyse par diffraction des rayons X a montré qu'il y a du Cr(VI) non traité dans le système de ciment solidifié, comme en témoigne la présence de pics K_2CrO_4 à la concentration 0,2 ; 2 et 5 % de poids (Wang et Vipulanandan, 2000). En présence de Cd et Zn, l'hydratation est en général rapide, mais elle est considérablement plus rapide en présence de Cr. Les colloïdes Zn accélèrent les paramètres et retardent l'hydratation (Rosseti et Medeci, 1995). Les données rassemblées dans les tableaux II-3 et II-4 confirment les teneurs élevées en métaux lourds dans le ciment Portland.

Tableau II-3 : Teneurs en métaux contenus dans le ciment Portland et dans la roche naturelle en ppm (Fauveau, 1997).

| Roche naturelle | Teneurs en ppm | | | | | | | |
|------------------------|----------------|-----|--------|------|-----|-----|-----|------------|
| | Cr | Mn | Fe | Ni | Zn | As | Cd | Pb |
| Péridotite | 729 | 793 | 60,300 | 2281 | 171 | 0 | 3 | 40 |
| Grès | 47 | 65 | 8,700 | 88 | 83 | 2 | < 1 | 81 |
| Schistes | 132 | 568 | 70,400 | 66 | 174 | 17 | 2 | 101 |
| Granite | 137 | 219 | 10,250 | 421 | 83 | 4 | 1 | 93 |
| Quartzite | 13 | 8 | 598 | 5 | 6 | 2 | < 1 | 23 |
| Ciment Portland | | | | | | | | |
| Minimum | 63 | 107 | 26,000 | 18 | 21 | 13 | 0 | 9 |
| Maximum | 154 | 922 | 35,000 | 49 | 290 | 117 | 2 | 171 |

En effet, la teneur maximale de 171 ppm pour le plomb et 154 ppm pour le Cr (Tableau II-3) peuvent induire des dégâts préjudiciables aux végétaux, à la population et à l'environnement. Pour Mijno (2007), les teneurs en différents métaux lourds pouvant se trouver dans le ciment Portland sont reportés dans le tableau II-4, certaines sont considérées élevées et néfastes.

Tableau II-4 : Composition chimique en ppm de quelques métaux et minerais contenus dans le ciment Portland (Mijno, 2007).

| Ciment Portland | Métaux et minerais | | | | | | | | | |
|-----------------|--------------------|------------|--------|-----|----|----|-----------|-----|----|----|
| | As | Ba | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Sr | Zn | Zr |
| Teneurs en ppm | 5 | 144 | < l.d. | 108 | 15 | 24 | 22 | 697 | 99 | 80 |

II.3.1.4. Le cadmium (Cd)

Le Cadmium ($^{112,41}\text{Cd}_{48}$), 65^{ème} élément naturel en abondance dans la croûte terrestre ; élément de transition du groupe II B est un élément non essentiel et toxique, sans aucune signification métabolique. Il a une semblable configuration électronique et état de valence, possédant des affinités égales pour les ligands de soufre, d'azote et d'oxygène (Aravind et Prasad, 2005). C'est un métal lourd dont le nombre d'oxydation le plus commun est +2 (Buchet et al., 1990 ; Staessen et al., 1999).

a. Origine du cadmium polluant

Le Cd (densité 8,6 g.cm⁻³) est un métal lourd assez répandu (Cosio et al., 2004), naturellement présent dans les écosystèmes à l'état de traces (0,04–0,32 mM), listé par l'EPA comme un des

126 polluants prioritaires, sa demi vie dans le corps humain est estimé entre 15 et 20 années (Jin et al., 1998). Il est libéré dans l'environnement par les stations électriques, systèmes de chauffage, industrie de métaux, incinérateurs de déchets, trafic urbain, stabilisateurs plastiques, batteries NiCd, cimenteries, pigments et les fertilisants phosphatés (Sanita di Topi et Gabrielli, 1999), produits chimiques stabilisants, (Buchet et al., 1990 ; Staessen et al., 1999). Environ 13000 tonnes de Cd sont produites annuellement à travers le monde. Le Cd est reconnu comme polluant extrêmement significatif à cause de sa toxicité et solubilité dans l'eau (Pinto et al., 2004).

b. Phytotoxicité du cadmium

Le Cadmium est un métal lourd parmi les plus nocifs et les plus redoutables (Cosio et al., 2004). C'est un élément non essentiel qui affecte négativement la croissance et le développement des plantes (Benavides et al., 2005). C'est la cause d'un nombre d'événements parallèles et/ou consécutifs au niveau moléculaire, physiologique et morphologique (Sanita di Topi et Gabrielli, 1999).

Cosio et al. (2006) rapportent que quelques dégâts macroscopiques sur le feuillage d'arbres sous forme de chloroses et nécroses inégales croissent avec l'âge de la feuille, comme c'est le cas de *Salix viminalis* tolérant au stress cadmié. En utilisant l'autoradiographie, ces mêmes auteurs ont trouvé que le gradient d'accumulation est en fonction de l'âge de la feuille avec une faible teneur en Cd distribuée régulièrement dans un jeune feuillage et de plus importante teneur accumulée préférentiellement au niveau des veines des feuilles plus âgées. Selon Pavlikova et al. (2008), l'excès de Cd altère la synthèse des ARN, inhibe l'activité de la ribonucléase, de la phosphorylation oxydative mitochondriale et interagit avec la balance de l'eau dans la plante.

La dégénérescence des chlorophylles et la réduction du taux de photosynthèse est une réponse commune dans les plantes exposées à plusieurs métaux, en particulier le Cd (Lagriffoul et al., 1998). Les solutions de sols ayant une concentration de Cd variant entre 0,32 à environ 1 mM peuvent être considérées comme modérément polluées (Sanita di Topi et Gabrielli, 1999). C'est un métal particulièrement dangereux, car les plantes qui poussent sur des sols contaminés peuvent l'absorber et l'accumuler en grandes quantités dans les tissus comestibles sans aucun signe visible, introduisant ainsi le métal dans la nourriture (Monteiro et al., 2008 ; Pavlikova et al., 2008). L'absorption du Cd par les plantes représente un transport opportuniste pouvant remplacer un autre cation divalent comme Zn^{2+} , Cu^{2+} ou Fe^{2+} (Welch et Norvell, 1999).

Le transport du cadmium à travers la membrane est probablement facilité par les transporteurs qui servent à la mobilité des métaux essentiels ; aussi, le cadmium limite leur absorption comme il inhibe le transport de Fe vers les tiges. Il peut se lier également à des groupes spécifiques de protéines et de lipides ou de protéines des canaux des membranes, inhiber donc le transport et perturber l'absorption de nombreux macro et micronutriments. La destruction des membranes cellulaires peut modifier le rapport entre les éléments essentiels et entraîner la diminution de leur contenu, incitant ainsi les carences en éléments nutritifs (Cseh, 2002).

Les dommages causés par le Cd conduisent à la décoloration des chlorophylles (Pavlikova et al., 2008). C'est un métal particulièrement néfaste pour l'appareil photosynthétique. L'inhibition de l'activité de la Rubisco (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase) dans le cycle de Calvin est considérée comme une réponse primaire à un stress Cadmié (Siedlecka et al., 1997) ; les niveaux de chlorophylle totale et de l'efficacité photochimique maximale du photosystème II peuvent être réduits dans les différentes espèces de plantes (Mysliwa-Kurziel et al., 2002).

Il a été rapporté par Sanita di Topi et Gabrielli (1999) que l'ouverture des stomates, la photosynthèse et la transpiration sont des mécanismes affectés par le cadmium en solution nutritive, mais le métal est absorbé par les plantes plus facilement dans les solutions nutritives que des sols. Donc, le Cd interfère avec la photosynthèse, la respiration et le métabolisme de l'azote induisant un stress oxydatif, pouvant aboutir à la faible croissance et production de biomasse.

c. Accumulation et tolérance des plantes au cadmium

Dans les feuilles de l'*Arabidopsis halleri*, les trichomes ont de loin les plus importantes concentrations en Zn et Cd. A l'intérieur du trichome il y avait une compartimentation sub-cellulaire frappante, avec presque tous les Zn et Cd accumulés dans un cercle étroit de la base du trichome ; cependant, les cellules du mésophylle semblent jouer un rôle important dans la capacité d'hyperaccumulation de ces deux éléments pour ce végétal (Küpper et al., 2000).

II.3.1.5. Le chrome (Cr)

En termes d'abondance, le chrome est le septième élément de l'écorce terrestre. C'est un important contaminant de l'environnement, libéré dans l'atmosphère suite à son énorme utilisation industrielle (Panda et Choudhury, 2005). Le chrome existe sous plusieurs états

d'oxydation avec une valence pouvant varier de -2 à $+6$. Les états de stabilité les plus importants étant 0 (élément Cr), $+3$ (Cr trivalent) et $+6$ (Cr hexavalent). Biologiquement, les composés à Cr(III) et Cr(IV) sont les plus significatifs (Codd et al., 2001). Le Cr(III) est un minéral biologique essentiel à faible dose ; nécessaire pour le métabolisme de l'insuline et le métabolisme normal du glucose (Jeejeebhoy, 1999).

a. Origine du chrome polluant

En plus de la roche mère, le chrome provient de diverses origines pour s'incorporer dans le compartiment biotique de l'écosystème (Sharma et al., 1995). La plus large utilisation des composés chromés, principalement les formes Cr(III) et Cr(VI), dans les alliages, aciéries, moulages, tannage de cuirs et préservation du bois, font de ces industries de potentielles sources de contamination de l'environnement par le chrome (Dixit et al., 2002).

b. Phytotoxicité du chrome

Parmi les nombreuses formes de Cr, Cr(VI) est la plus importante en raison de sa toxicité, solubilité et mobilité (Wang et Vipulanandan, 2000). Le Cr(VI) est classé comme principal contaminant toxique et mutagène (Han et al., 2004). Une concentration élevée en Cr peut perturber l'ultrastructure du chloroplaste et inhiber ainsi le processus de photosynthèse. Le stress oxydatif induit par le chrome initialise la dégradation des pigments photosynthétiques causant ainsi une baisse de croissance (Panda et Choudhary, 2005).

Contrairement au cuivre, le chrome n'est pas considéré comme élément essentiel dans la nutrition des plantes. Les symptômes de phytotoxicité au chrome comprennent une faible croissance et une chlorose des feuilles (Sharma et al., 1995).

Le Cr est également un métal dont le comportement redox dépasse celui des autres métaux tels que Co, Fe, Zn, Ni, etc., il peut affecter le métabolisme antioxydant chez les plantes (Panda et Choudhury, 2005) ; causer une réduction du nombre de cellules parenchymateuses et palissadiques dans la feuille, induisant la formation de dépôts de caillots au niveau des racines et tiges, en plus de l'augmentation du nombre de vacuoles et des matériaux denses d'électrons le long de la paroi du xylème et des vaisseaux du phloème.

Dixit et al. (2002) montrent que la présence de chrome dans les mitochondries de la racine des plantes traitées au Cr(VI) indique un transport du métal dans cet organelle. Les phospholipides et protéines sont suggérés comme des sites spécifiques de la liaison du cation avec les membranes mitochondriales. L'inhibition du transport d'électrons induite par le Cr peut être due

à son interaction avec le Cu et le Fe des transporteurs d'électrons subissant des changements d'oxydoréduction au cours de la circulation des électrons.

Il ressort de l'inhibition de l'activité de transport d'électrons que Cr en excès affecte les éléments fonctionnels de la chaîne de transport d'électrons dans les mitochondries de la racine ; cette toxicité des mitochondries comporte un mécanisme de stress oxydatif par les radicaux superoxydes (Dixit et al., 2002). Bien que le taux d'adsorption et de translocation du chrome dans les végétaux soit faible (Mengel et Kirkby, 1987), l'action des sels chromiques sur les végétaux se manifeste par un dépérissement général de toutes les parties du végétal et par la destruction de l'appareil chlorophyllien (Moore, 1991).

c. Accumulation et tolérance des plantes au chrome

La teneur en Cr dans la partie foliaire de la plante est normalement inférieure à 1 mg.kg^{-1} , valeur largement en-dessous de sa concentration dans le sol (Losi et al., 1994). Une accumulation accrue provoque une perturbation de l'ultrastructure du chloroplaste et induit donc un dysfonctionnement du processus photosynthétique (Panda et Choudhury, 2005). Généralement, la concentration en chrome total dans les plantes terrestres étudiées varie entre 0,1 et 45,2 ppm (Moore, 1991).

Les arbres possèdent une considérable faculté de s'adapter au stress induit par les métaux toxiques. En dépit de cette capacité, il existe une importante variation d'aptitude chez les différentes espèces et populations d'arbres pour survivre et se développer en réponse aux teneurs élevées en métaux (Dickinson et Lepp, 1995). Le phénomène de compartimentation ou de liaison de la paroi cellulaire pourrait jouer un rôle majeur dans l'hyperaccumulation des métaux lourds (Cosio et al., 2004).

II.3.1.6. Le cuivre (Cu)

L'ion cuivre (Cu(I) , Cu^+) a 10 électrons sur les orbitales d ($3d^{10}$), tandis que le cuivre ion (Cu(II) , Cu^{2+}) a seulement 9 électrons dans les orbitales d ($3d^9$), un électron étant impair. Par conséquent, le cuivre bivalent (Cu(II)) est paramagnétique et représente l'état d'oxydation le plus stable du Cu (Valko et al., 2005). *In vivo*, Il peut exister dans de multiples états d'oxydation (Marschner, 1995 ; Yruela, 2005). C'est un métal omniprésent dans notre environnement, et est également essentiel pour le fonctionnement de la plupart des organismes vivants (Andrews, 2001).

Le cuivre est présent dans la plastocyanine (Photosynthèse), cytochrome C oxydase (Respiration), laccase, superoxide dismutase (SOD), ascorbate oxydase (défense antioxydative). Il est également impliqué dans le contrôle du métabolisme hormonal (récepteur d'éthylène) (Rodriguez, 1999). Equipé d'un potentiel redox élevé, le cuivre sert de cofacteur pour les protéines impliquées dans de nombreuses réactions biologiques, telles que la photosynthèse et la respiration, formation de tissus conjonctifs, métabolisme du fer et élimination des radicaux libres (Andrews, 2001).

Le Cuivre participe à des réactions biologiques importantes comme cofacteur enzymatique (cytochrome-C-oxydase et amine oxydase), transporteur d'électrons dans la phosphorylation oxydative et la photosynthèse (Solomon et Lowery, 1993). A des concentrations élevées, il peut être fortement toxiques (Rooney et al., 2006). Cu peut altérer les membranes cellulaires par peroxydation et dégradation des acides gras polyinsaturés (Weckx et Clijsters, 1996), induisant une accumulation et des dommages dans la cellule végétale (Deng et al., 2004).

Le cuivre est un micronutriment essentiel pour la croissance des plantes. Il participe à de nombreuses fonctions physiologiques comme un composant de plusieurs enzymes de la plante, avec des exigences minimales de l'ordre de 1 à 5 mg/g dans les tissus végétaux, selon les espèces (Marschner, 1995). Mais en excès, il devient une menace pour la fonction régulière des activités métaboliques de la plante. Dans la cellule, Cu^{2+} est facilement réduit en Cu^+ (Sgherri et al., 2007).

a. Origine de la pollution par le cuivre

L'accumulation du cuivre dans les sols résulte de l'utilisation des fertilisants, l'application des coulis de porc et de volailles qui en sont riches, les fongicides, les dépôts atmosphériques issus de l'industrie et de l'activité urbaine, les mines métallifères ou le traitement des métaux (Bernal et al., 2007). Le cuivre est communément utilisé aussi comme agent antiseptique (Baumann et al., 2009).

b. Phytotoxicité du cuivre

Les teneurs élevées en cuivre inhibent la croissance et le développement des plantes (Bernal et al., 2007). Son seuil de toxicité se situe entre 20 et 30 mg.kg^{-1} de poids sec (Marshner, 1999). Sous conditions physiologiques, le cuivre existe sous forme ionique Cu^+ et Cu^{2+} . Le cycle redox entre Cu^{2+} et Cu^+ peut catalyser la production de radicaux hydroxyles, avec des

dommages notables à l'ADN, aux lipides, aux protéines et à d'autres biomolécules (Halliwell et Gutteridge, 1984). Les ions libres du cuivre oxydent carrément la liaison thiol à l'intérieur des protéines, provoquant la perturbation de leur structure secondaire (Ducic et Polle, 2005). Il a été également constaté que le cuivre interfère avec le métabolisme et l'absorption du Mn. A l'augmentation de la concentration de cuivre correspond une diminution du contenu cellulaire du Mn. La réduction de la croissance est évidente dans le phytoplancton océanique. Cet effet est inversé par l'augmentation de la concentration de Manganèse (Prasad et Strzałka, 2002).

Les plantes qui croissent en présence de teneurs élevées en Cu présentent normalement une biomasse réduite et des symptômes de chloroses. Un faible contenu chlorophyllien, des altérations de la structure des chloroplastes et de la composition des membranes des thylacoïdes ont été signalés dans les feuilles suite à de telles conditions de croissance (Quartacci et al., 2000).

c. Accumulation et tolérance des plantes au cuivre

Les niveaux critiques de la carence en cuivre sont de l'ordre de 1-5 mg.kg⁻¹ de poids sec de la plante et le seuil de toxicité est au-dessus de 20 à 30 mg.kg⁻¹ de matière sèche (Marschner, 1999). Cu, comme ion libre, peut générer un stress oxydatif et causer des dommages graves aux molécules organiques. Les ions cuivre libres oxydent facilement les liaisons thiol dans les protéines, causant une perturbation de leur structure secondaire (Ducic et Polle, 2005). Il a été constaté qu'il intervient au niveau de multiples sites de la chaîne de transport d'électrons de la cyanobactérie fixatrices d'azote, *Anabaena doliolum* (Rai et al., 2003).

En raison de sa capacité de catalyser la formation de dangereux radicaux libres et de générer la peroxydation lipidique, Cu peut être extrêmement phytotoxique. Il a été également montré que la réduction d'un électron d'oxygène moléculaire en O₂⁻, au détriment du NAD(P) H du cytosol, par une oxydase de la membrane plasmique, est augmentée par le cuivre (Quartacci et al., 2001).

La tolérance des plantes au cuivre peut se définir comme l'habilité d'un organisme à se développer et à croître en présence d'ions de cuivre (Bernal et al., 2007). Le système membranaire de transport joue un rôle central dans le processus de translocation du cuivre du sol à travers la plante, et le distribue dans les compartiments des différentes cellules et organelles (Yruela, 2005). Les faibles concentrations de cuivre causent environ 50 %

d'inhibition de la fluorescence de la chlorophylle *a* ; et l'activité d'évolution de l'oxygène n'affecte pas la composition des polypeptides du photosystème II. Le contenu réduit de chlorophylle observé dans les feuilles des plantes cultivées en présence de fortes concentrations de cuivre les rend plus vulnérable à la photoinhibition comme conséquence d'un déficit en Cu (Yruela et al., 2000).

II.3.1.7. Le magnésium (Mg)

a. Importance du magnésium pour les plantes

Le magnésium est un élément majeur de la nutrition minérale des végétaux. Il entre dans la composition de plusieurs organites cellulaires. C'est l'atome central dans les molécules de toutes les chlorophylles. *In vitro*, les ribosomes se décomposent en leurs sous-unités lorsqu'on leur retire le magnésium (traitement à l'EDTA par dialyse) ; lorsqu'on ajoute de nouveau du magnésium dans le milieu, les particules complètes se reforment. En tant que cofacteur, le magnésium active une série d'enzymes. Des étapes réactionnelles, dont les enzymes sont activées par la lumière, seraient principalement responsables du déroulement correct du cycle de la lumière : celles qui sont catalysées par la fructose-diphosphatase, la sédoheptulose-diphosphatase, la ribulose diphosphate carboxylase et la phosphoribulokinase. Elles dépendent des ions Mg^{2+} et n'atteignent leur pleine activité que si ces ions sont présents dans le stroma en quantité suffisante. Il forme également un complexe avec l'ATP avant que celle-ci ne soit dégradée pour fournir de l'énergie. En fin, il joue un rôle important dans la régulation de la fixation du CO_2 pendant la photosynthèse (Richter, 1993).

II.3.1.8. Le manganèse (Mn)

Le Mn est un métal existant dans la nature à l'état d'oxydes, sous différents états d'oxydation. Son niveau normal dans l'air au voisinage de zones industrielles est de $0,03 \mu g/m^3$, $0,05 mg/l$ dans l'eau potable et de 560 à 850 ppm dans le sol. Il est utilisé par les plantes sous la forme bivalente Mn^{2+} (Mukhopadhyay et Sharma, 1991). Le Manganèse est un micronutriment essentiel pour plusieurs processus métaboliques importants, telle que la photolyse de l'eau par PS II ou pour l'assimilation de NO_2^- dans les chloroplastes (Fodor, 2002).

a. Importance du manganèse pour les plantes

Le manganèse est un élément trace essentiel pour les végétaux supérieurs : c'est un activateur d'un certain nombre d'enzymes participant à la photosynthèse, la respiration et la synthèse des protéines, des lipides et des glucides. Une déficience en Mn peut inhiber l'élongation des

cellules et diminuer la croissance (Mukhopadhyay et Sharma, 1991). Le manganèse joue un important rôle dans le processus redox, la balance de l'eau, l'évolution de l'oxygène dans le système photosynthétique et dans la Mn-protéine dans le photosystème II (Sinha et al., 2006).

Le manganèse est un composant essentiel du WOC (Water-Oxidizing Complex : complexe d'oxydation de l'eau) au niveau du PS II. La notion prévalue est que le WOC est un amas d'atomes de Mn qui agit comme un "condensateur biologique" capable de stocker un total de quatre équivalents oxygène catalysant l'oxydation de l'eau en l'oxygène (Hotchandani et al., 1999). Le manganèse est essentiel aux fonctions vitales de la plante à tous les stades du développement. Il agit comme cofacteur de plusieurs enzymes telles que la Mn-superoxyde dismutase, Mn-catalase, pyruvate carboxylase et phosphoénolpyruvate carboxykinase. À cet effet, l'incorporation du Mn par les cellules est essentielle, particulièrement dans la photosynthèse, où il joue un rôle critique comme accumulateur d'équivalents de charges positives dans la réaction catalysée par le PS II (Marschner, 1995).

Le Mn facilite la synthèse de la chlorophylle et l'assimilation des nitrates ; il active les enzymes de la biosynthèse des lipides ; fonctionne dans la formation de riboflavine, d'acide ascorbique et de carotène. Les plantes diffèrent considérablement par leur concentration en manganèse dans les feuilles (Ducic et Polle, 2005) et dans leur sensibilité à la carence au Mn (Mengel et al., 2001).

b. Phytotoxicité du manganèse

Bien que le manganèse forme des composés relativement solubles à pH élevé, sa toxicité constitue un problème quand le pH du sol est acide. Les symptômes de toxicité sont difficiles à différencier de ceux dus aux autres facteurs stressants, le sol contient du manganèse libre souvent autant que des ions Al^{3+} libres. Ceci est fortement augmenté par l'acidité du sol et l'importance des dépôts (Jackson et al., 1990). Les parties aériennes de la plante sont beaucoup plus affectées que le système racinaire (Mukhopadhyay et Sharma, 1991 ; Boojar et Goodarzi, 2008).

Le premier symptôme de la toxicité au manganèse est la diminution du taux de la photosynthèse nette en plus d'une augmentation dans l'activité de la polyphénol-oxydase dans la feuille. Ceci peut être le résultat de l'interaction entre l'ion Mn et la Rubisco. Une exposition continue à cet ion engendre ultérieurement une réduction de la photosynthèse et une diminution dans les teneurs en chlorophylles et en protéines (Jackson et al., 1990).

c. Accumulation et tolérance des plantes au manganèse

L'accumulation du manganèse a particulièrement lieu dans les cellules périphériques du pétiole et celles du parenchyme palissadique et du parenchyme spongieux (Mukhopadhyay et Sharma, 1991). Quelques années plus tard, Gonzales et Lynch (1999), rapportent que Mn pourrait s'accumuler dans les vacuoles, dans les parois cellulaires et les thylacoïdes.

Les mécanismes moléculaires de la tolérance au manganèse demeurent obscurs. Le seuil de tolérance varie d'une espèce à l'autre et semble être compliqué vu qu'il est sous le contrôle de plus d'un gène (Mukhopadhyay et Sharma, 1991).

En 1999, Gonzales et Lynch ont pu démontrer que la compartimentation du manganèse se produit à la fois dans le tissu et au niveau des organites ; cette accumulation dans la fraction enrichie de l'épiderme pourrait contribuer à la tolérance de *Phaseolus vulgaris* au Mn. Ces mêmes auteurs suggèrent également que l'excès de manganèse est immobilisé dans les cristaux d'oxalate, comme une autre forme de tolérance et de détoxification.

II.3.1.9. Le nickel (Ni)

Le nickel est un métal blanc argenté que l'on retrouve dans plusieurs états d'oxydation allant de -1 à +4 (Barceloux, 1999). Cependant, l'état d'oxydation +2 est le plus commun dans les biosystèmes. Les forces chimiques et physiques (érosion, précipitation et chélation) redistribuent constamment le nickel entre l'eau, l'atmosphère et le sol. C'est un élément essentiel dans la nutrition des plantes (Kovacik et al., 2009). C'est un métal actif non redox incapable de stimuler la formation de ROS directement (Gajewska et Sködowska, 2005). C'est un "ultramicronutriment" essentiel pour la plante, et le centre actif de l'uréase et le cofacteur d'une superoxyde dismutase (SOD) (Küpper et Kroneck, 2007 ; In Kovacik et al., 2009).

a. Origine de la pollution par le nickel

En raison de sa faible teneur dans les plante (0.05–10 mg.g⁻¹ de poids sec), la déficience du nickel est rare, comparée à son excès causé par l'industrie de métallurgie et l'exploitation des mines (Kovacik et al., 2009).

b. Phytotoxicité du nickel

Dans l'environnement, l'excès de nickel diminue les teneurs en chlorophylles (Gajewska et Sködowska, 2007), la croissance (Boominathan et Doran, 2002) et la balance d'eau dans les plantes sensibles aux métaux lourds (Pandey et Sharma, 2002). Il est connu également que le surplus de nickel dans la plante peut avoir des effets toxiques sur la photosynthèse, la

transpiration et l'assimilation des éléments minéraux. Le mécanisme de toxicité n'est pas encore entièrement élucidé mais la tolérance des plantes au nickel dépend de l'espèce (Tatar et al., 1999).

Le nickel s'accumule dans les feuilles des plantes contenant des concentrations élevées en citrate, ce qui suggère que cet acide organique puisse être impliqué dans la détoxification du nickel. Les effets évidents attribués à la déficience en nickel suggèrent qu'il est impliqué dans de nombreux processus métaboliques (Jackson et al., 1990).

II.3.1.10. Le zinc (Zn)

Le zinc est le 25^{ème} élément en abondance dans la croûte terrestre. On le rencontre dans la nature principalement sous forme de blende (ZnS). C'est un élément trace omniprésent essentiel pour les plantes et les animaux. La teneur en Zn libre intracellulaire est faible : de l'ordre de 0,5 nM. Son nombre d'oxydation le plus stable est +2 (Günthardt-Goerg et Vollenweider, 2007). Le Zinc (^{65,39}Zn₃₀), est un élément de transition du groupe II B. Il possède une configuration électronique et une valence similaire à celles du cadmium, avec une égale affinité aux ligands sulfure, à l'azote et à l'oxygène (Aravind et Prasad, 2005). Le corps humain en contient 1,5 à 2,5 g de Zinc, présent dans tous les organes, les tissus, les fluides et les sécrétions (Benters et al., 1997).

a. Origine de la pollution par le zinc

La plupart du zinc dans l'environnement provient de sources anthropiques, notamment la métallurgie (mines, fonderies, finition des métaux), l'agriculture (engrais, pesticides, fumier), production d'énergie (essence au plomb, fabrication de piles, centrales électriques), boues d'épuration, microélectronique et élimination de déchets (Mattielli et al., 2009).

b. Accumulation et phytotoxicité du zinc dans les plantes

Van Assch et Clijsters (1990) rapportent que la phytotoxicité du zinc est confirmée aussi bien en agriculture qu'en écologie et apparaît sous forme de nécroses et de chloroses.

L'accumulation du zinc est accrue dans le vieux feuillage ; il y a peu de détoxification de zinc par stockage dans les parois cellulaires ; avec accumulation préférentielle dans les tissus de la face inférieure des feuilles près des veines, souvent à l'intérieur des chloroplastes et rarement à l'intérieur de la vacuole (Günthardt-Goerg et Vollenweider, 2007). Par contre, Zhao et al., (2000) montrent qu'il s'accumule de préférence dans les trichomes. Pour Frey et al. (2000), il semble qu'il est séquestré dans les vacuoles des cellules de l'épiderme de *Thlaspi caerulescens*,

sous forme soluble. En 2002, Sarrat et al. ont trouvé que le zinc se liait au malate, quant à Küpper et al. (2002) eux, le trouvent accumulé au niveau du mésophylle des cellules.

Avec une concentration de 3000 ppm de zinc dans la couche arable, Cosio et al., (2006) observent des lésions macroscopiques en forme de pointillés sur la face supérieure de la feuille et des zones nécrotiques près des veines et sur les bords. Günthardt-Goerg et Vollenweider (2007) eux, ont remarqué des effets directs du zinc dans le phloème, des plis dans les parois cellulaires, en plus d'une dégénérescence du contenu cellulaire.

II.3.1.11. L'aluminium (Al)

L'aluminium est un élément des plus abondants de la croûte terrestre, avec environ 7 % de sa masse (Gianakoula et al., 2008). Comme l'aluminium n'est pas un métal de transition, il ne catalyse pas de réactions de peroxydation (Rama Devi et al., 2003).

a. Accumulation et tolérance des plantes à l'aluminium

Un stress dû à l'aluminium entraîne l'inhibition partielle de la photosynthèse et le transport d'électrons sur le photosystème II, la fermeture des centres de réaction du photosystème II, une perte du contenu élémentaire des chloroplastes et, une acidification concomitante du contenu intrathylloïdal, donc une inhibition de la photosynthèse (Moustakas et al., 1995).

En réponse à un traitement à l'aluminium, la concentration en proline augmente au triple au niveau des racines de plantes tolérantes, une légère augmentation est observée dans les racines des plantes sensibles. D'un autre côté, de nombreuses espèces végétales ont développé des mécanismes compliqués face à un stress dû à l'aluminium (Gianakoula et al., 2008). Plusieurs mécanismes ont été proposés par la littérature pour la tolérance ou l'évitement de la plante à une toxicité à l'aluminium (Kochian, 1995). Par exemple : Une exposition des plantes à l'aluminium entraîne un déficit en eau (Barcelo et Poschenrieder, 1990). Aussi, l'atténuation du déficit hydrique par la synthèse de la Proline peut sensiblement contribuer à l'adaptation des plantes aux conditions de stress à l'Aluminium (Giannakoula et al., 2008).

Tabuchi et al., (2004) ont montré que, chez des cultivars de blé résistant, l'aluminium augmente les teneurs en sucres solubles et inhibe l'élongation des racines. Ils suggèrent également que le potentiel osmotique est faible par l'augmentation de la concentration en sucres solubles dans le suc cellulaire, permettant ainsi au cultivar résistant de prendre de l'eau et aux cellules des racines de s'allonger contre la rigidité de la paroi cellulaire sous contrainte de stress à l'Aluminium.

Ainsi, la tolérance est corrélée avec l'augmentation des niveaux de nutriments minéraux (Giannakoula et al., 2008). Plusieurs mécanismes de tolérance sont proposés chez les plantes impliquant l'évitement externe ou la tolérance interne (Kochian, 1995).

b. Phytotoxicité de l'aluminium

L'effet le plus important de la toxicité de l'aluminium est une diminution considérable de la croissance des racines, qui conduit à une faible productivité (Milla et al., 2002). Une concentration de l'ordre de la micromole peut inhiber l'élongation de la racine des plantes et influencer l'absorption de l'eau et des autres éléments nutritifs, induisant un retard de croissance et développement des plantes (Delhaize et Ryan, 1995).

Le stress oxydatif peut être un élément important de la réaction de la plante à la toxicité à l'aluminium (Yamamoto et al., 2003). Il a été constaté que l'aluminium inhibe l'absorption nette de Ca, Mg et N dans les racines, tandis que le phosphate ne semble pas être affecté (Moustakas et al., 1995 ; Poschenrieder et al., 1995). Selon Giannakoula et al. (2008), la tolérance est corrélée à un taux élevé en nutriments minéraux.

L'importance fonctionnelle de l'accumulation de la proline induite par l'aluminium chez une lignée de maïs tolérante réside dans sa contribution à l'entretien de l'équilibre de l'eau ; un stress à l'Al est connu pour perturber cet équilibre hydrique (Barcelo et Poschenrieder, 1990).

Gunsé et al. (1997) ont montré que l'aluminium diminue l'extensibilité de la paroi cellulaire et la conductivité hydraulique chez une variété de maïs sensible à l'Al, mais l'augmente chez une variété résistante. Les résultats de Tabuchi et Matsumoto (2001), indiquent que l'aluminium affecte la capacité d'absorption de l'eau des cellules au niveau des racines.

II.3.2. Mécanisme de tolérance des plantes aux métaux

En réponse à une accumulation excessive d'ions métalliques, les plantes ont développé plusieurs mécanismes pour maintenir et réguler leur homéostasie en opérant à la fois aux niveaux intra et extracellulaires (Pavlikova et al., 2008). Ce mécanisme cellulaire homéostatique sert à réguler la concentration en ions métalliques à l'intérieur de la cellule pour minimiser les dommages potentiels pouvant résulter de l'exposition aux ions métalliques non essentiels (Benavides et al., 2005).

La tolérance des végétaux aux métaux peut être définie comme l'habilité d'un organisme à survivre à la toxicité du métal par le moyen de propriétés intrinsèques et de mécanismes cellulaires potentiels complexes, tels que l'imperméabilité de la membrane cellulaire, changement dans la prise ou l'élimination du métal, l'habilité de le liquer ou de le séquestrer, et les différences de sensibilité des enzymes à inhiber les métaux (Hall, 2002). Dans les feuilles, les plus importantes teneurs en métaux se trouvent à la base du trichome. Cependant, le mésophile semble jouer un rôle crucial dans la capacité d'hyperaccumulation de *Arabidopsis halleri* (Küpper et al., 2000 ; Casio et al., 2004).

Pour Prasad et Strzałka (2002), la membrane plasmique est la première cible des métaux. Ainsi, c'est seulement après qu'ils aient passé la membrane qu'ils peuvent interagir avec les autres composés cellulaires. Deux mécanismes sont généralement retenus pour expliquer les changements induits par le métal dans la membrane plasmique : un effet direct sur le groupement sulfhydrile des constituants de la membrane, et les radicaux libres qui induisent la peroxydation lipidique, phénomène qui est, au niveau de la biomembrane, une réaction importante et destructive, parce que les métaux sont connus pour avoir une grande affinité aux groupements hydroxyles et sulfhydriles. Cela dépend des propriétés physicochimiques des cations.

Le mouvement des ions à travers la membrane plasmique ou leur transport à l'intérieur de la vacuole sont deux voies de réduction du niveau des métaux toxiques dans le cytosol et sont alors potentiellement d'importants mécanismes de tolérance aux métaux (Hall, 2002). Les mécanismes moléculaires proposés pour expliquer la tolérance des plantes aux métaux par détoxification résultent dans la liaison de la paroi cellulaire et les éléments toxiques ainsi que leur compartimentation dans les vacuoles, dans les mécanismes d'adaptation de nature métabolique ou enzymatique (Sanita di Toppi et Gabbrielli, 1999, Schützendübel et Polle, 2002; Sharma et Dietz, 2006).

II.4. Les Matières particulaires (poussières ou aérosols)

Les émissions anthropiques de polluants atmosphériques comme les particules et les métaux lourds, liées à l'urbanisation rapide et à l'industrialisation dans les pays en développement, affectent gravement l'environnement et la santé humaine. La pollution par les matières particulaires est un problème environnemental sérieux principalement en raison de la présence de substances toxiques et de métaux traces dans l'atmosphère. Les ions solubles dans l'eau sont

les principaux composants des aérosols atmosphériques, en particulier les plus fines (Chaudhary et Kumar, 2017).

II.4.1. Généralités sur les aérosols

Les aérosols sont des constituants majeurs de l'atmosphère au même titre que les polluants gazeux. Ils sont définis comme une suspension de fines particules liquides et/ou solides dans l'air, dont la taille varie généralement de 0,01 à 10 μm et qui séjournent dans l'atmosphère de quelques heures à plusieurs semaines (Behra, 2013), ce qui ne les rend pas visibles, mais on peut aisément voir leurs effets collectifs dans l'atmosphère quand leur concentration dans l'atmosphère est élevée. En revanche, on peut voir les aérosols un par un à l'aide d'un microscope électronique, où on remarque la variété des tailles, de formes, d'aspects et couleurs (Boucher, 2012).

Tableau II-5 : Composition chimique de la colonne atmosphérique d'aérosols selon (Sportisse, 2008).

| Espèce | Colonne atmosphérique (mg.m^{-3}) |
|------------------|--|
| Sels de mer | 7.0 |
| Minéral | 36.1 |
| Sulfate | 6.8 |
| Nitrate | 1.3 |
| Feux de biomasse | 3.9 |
| Partie organique | 4.5 |

La composition élémentaire des particules de poussière varie avec leur taille qui dépend parfois de leurs sources (Ram et al., 2015). On distingue en général, les aérosols inorganiques de ceux organiques. En pratique, les aérosols apparaissent comme des mélanges complexes d'espèces organiques, d'espèces inorganiques, de suie (carbone élémentaire) et d'eau liquide. La composition moyenne de la colonne atmosphérique d'aérosols est indiquée dans le tableau suivant. Une part non négligeable de la masse n'est pas attribuée par les méthodes actuelles de mesure. Il faut aussi compter avec les artefacts de mesures, liés, par exemple, à des processus de surface sur les filtres, qui conduisent à modifier la composition chimique lors du prélèvement (Sportisse, 2008).

Les aérosols font partie intégrante du système climatique et interagissent simultanément avec l'atmosphère, la biosphère, l'hydrosphère et la cryosphère. Actuellement, il est largement établi

et admis que les gaz à effet de serre ne sont pas les seuls facteurs anthropiques de modification du climat, car les aérosols ont masqué une partie de l'effet réchauffant des gaz depuis l'ère industrielle (Boucher, 2012).

L'atmosphérique joue un rôle majeur dans la dispersion des métaux. Dans l'atmosphère, la plupart des éléments métalliques se trouvent associés à des aérosols, c'est-à-dire à des particules liquides et/ou solides en suspension dans l'air. Ces particules sont transportées avec un temps de séjour plus ou moins long avant de retomber au sol (Gombert, 2005).

II.4.2. Origine et sources des matières particulaires

Les matières particulaires constituent un mélange de particules solides et de gouttelettes liquides se trouvant dans l'air. Elles sont composées de sulfates, de nitrates, d'ammoniac, de carbone organique, de carbone noir, de métaux et de poussière du sol. Les matières particulaires et les produits chimiques qui sont leurs précurseurs sont transportés dans l'air et traversent les frontières étatiques, provinciales, nationales et continentales (CCE, 2008).

Il existe de nombreuses sources naturelles et anthropiques de matières particulaires, notamment les rejets directs dans l'air provenant d'équipement lourd, d'incendies, de la combustion de déchets et de la poussière dégagée par les routes non asphaltées, du concassage de pierres et des sites de construction. Les matières particulaires se forment également à partir des produits chimiques précurseurs émis par les véhicules, les centrales électriques et les établissements industriels (CCE, 2008).

II.4.3. Fabrication et composition du ciment

La composition du ciment a été largement reprise par les auteurs selon les différentes provenances de la roche mère (Signes-Frehel et al., 1996 ; Pushpahal et al., 1997 ; Shawabkeh, 2005) ; Peschard et al., 2006). Les tableaux suivants traitent de cet aspect et nous renseignent sur les principales phases minérales constitutives de ce liant hydraulique (Tableaux II-6, II-7 et II-8).

Le ciment est un liant hydraulique, c'est-à-dire qu'il forme avec l'eau une pâte plastique "faisant prise et durcissant progressivement, même à l'abri de l'air, surtout sous l'eau" (NF P 15 – 301).

Le ciment Portland est un mélange de silicates et d'aluminates de calcium. La chaux nécessaire est généralement apportée par les roches carbonatées (calcaires et carbonate de calcium). La silice, l'alumine et l'oxyde de fer sont fournis par les argiles. Le principe consiste à chauffer dans un four un mélange de calcaire et d'argile pour décarbonater le calcaire et faire réagir la

chaux ainsi libérée sur les éléments argileux. On obtient les silicates tri- et bi-calciques (C3S, C2S), les aluminates et les aluminoferrites de chaux (C3A, C4AF). A 1450° C, le produit obtenu nommé "clinker", est ensuite refroidi, puis broyé finement avec un apport de 3 à 6 % de gypse. Le clinker est donc un produit de synthèse, phase pâteuse, dans laquelle se combinent les différentes espèces minérales (Signes-Frehel et al., 1996). Dans le tableau II-6, on retrouve diverses compositions du ciment dans la littérature.

Tableau II-6 : Détermination de la composition du ciment (% poids)

| Composant | Pushpahal et al. (1997) | Shawabkeh (2005) | Peschard et al. (2006) |
|--------------------------------|-------------------------|------------------|------------------------|
| SiO ₂ | 21,40 | 21,2 | 21,9 |
| Al ₂ O ₃ | 5,30 | 5,5 | 3,8 |
| Fe ₂ O ₃ | 3,10 | 3,1 | 4,3 |
| CaO | 63,40 | 64,18 | 62,8 |
| MgO | 1,00 | 2,5 | 2,2 |
| SO ₃ | 2,00 | 2,63 | 2,6 |
| Na ₂ O | — | 0,18 | 0,4 |
| K ₂ O | — | 0,71 | 0,39 |
| TiO ₂ | — | — | 0,4 |

La composition des principales phases: alite, belite et ferrite dans le ciment Portland dépend de la concentration des constituants principaux : CaO, SiO₂, Al₂O₃ et Fe₂O₃. Les composés mineurs tels que MgO, SO₃ et les alkalis influencent eux aussi la formation du clinker durant le processus d'incinération et celui de l'hydratation du ciment (Stephan et al., 1999).

En termes de phases, le ciment Portland est constitué d'un mélange : l'alite, la belite, l'aluminate et la ferrite. Selon Tarrida et al. (2002) les proportions sont respectivement de 50 à 75 % pour l'alite, 10 à 20 % pour la belite, 5 à 10 % pour l'aluminate et moins de 10 % pour la ferrite (Tableau II-7).

Tableau II-7 : Tableau récapitulatif des principales Phases du ciment

| Phases chimique | Phase minérale/Abréviation | Composition élémentaire | Fraction (%) du ciment |
|-------------------|--|---|------------------------|
| Alite | Silicate tricalcium : C ₃ S | (CaO) ₃ (SiO ₂) | 50 à 75 |
| Belite | Silicate dicalcium : C ₂ S | (CaO) ₂ (SiO ₂) | 10 à 20 |
| Alluminate | Aluminate tricalcium : C ₃ A | (CaO) ₃ (Al ₂ O ₃) | 5 à 10 |
| Ferrite | Aluminoferate tetracalcium : C ₄ AF | (CaO) ₄ (Al ₂ O ₃)(Fe ₂ O ₃) | < 10 |

C : CaO ; S : SiO₂ ; A : Al₂O₃ ; F : Fe₂O₃.

II.4.4. Composition de la poussière de ciment

Les composés considérés solubles dans les poussières générés par le ciment sont : CaCO_3 ; MgCO_3 ; $\text{MgCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; $\text{CaSO}_3 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$; $\text{MgSO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; et $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Ceux considérés comme particules de poussière pouvant se dissoudre dans l'eau sont : CaCO_3 ; MgCO_3 ; $\text{MgCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; $\text{CaSO}_3 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$; $\text{MgSO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Les réactions de HNO_3 ou de SO_2 avec les carbonates de Mg ou de Ca peuvent augmenter potentiellement la solubilité de la poussière. La réaction de HNO_3 est particulièrement efficace pour améliorer la solubilité parce que K^+ , Mg^{2+} et les nitrates de Ca^{2+} sont très solubles (Kelly et al., 2007).

Le tableau II-8 regroupe les corrélations les plus significatives entre la composition élémentaire des phases individuelles et la composition en vrac du ciment ; (coefficients de corrélation linéaire) (Hall et Scrivener, 1998).

Wang et Vipulanandan (2000) confirment que l'ajout de métaux lourds retarde le temps de durcissement et la pression de résistance du ciment. L'hydratation et le durcissement du ciment sont améliorés par l'ajout d'éléments toxiques tels que Cd, Cr, Pb et Zn qui sont parmi les plus répandus puis retrouvés typiquement dans les déchets industriels.

Tableau II-8 : Coefficients linéaires de corrélation entre la composition élémentaire des phases et la composition en vrac du ciment.

| Element | Alite (C ₃ S) | Belite (C ₂ S) | Ferrite (C ₄ AF) |
|----------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Mg | 0,97 | 0,72 | 0,96 |
| Al | ns | ns | 0,83 |
| Si | ns | ns | ns |
| S total | 0,76 | 0,91 | 0,74 |
| S (corrected) | 0,85 | 0,95 | 0,81 |
| K | 0,65 | ns | ns |
| Fe | 0,72 | ns | ns |

II.4.5. Mécanisme de tolérance des plantes aux poussières

Les réponses biochimiques des plantes supérieures aux doses toxiques de poussières sont très complexes et plusieurs stratégies de défense sont suggérées, incluant la complexation des ions métalliques, la réduction du flux des métaux ainsi qu'une amélioration de la production d'antioxydants qui détoxifient les espèces oxydatives réactives (ROS) produites au cours de la réponse aux métaux toxiques (Van Assche et Cligsters, 1990).

De même, les végétaux peuvent limiter les flux d'éléments toxiques en

- réduisant l'absorption racinaire,
- activant des mécanismes d'absorption plus spécifiques, mais plus coûteux d'un point de vue énergétique, ou en
- activant des mécanismes d'excrétion de ces éléments via des transporteurs spécifiques.

D'autres stratégies sont suggérées comme :

- Stratégie de tolérance par laquelle les végétaux limitent la mobilité des polluants ;
- Stratégie de détoxification par laquelle les végétaux limitent les effets toxiques induits par les polluants inorganiques et/ou le stress oxydatif (Pourrut, 2008).

II.4.6. Effets des poussières sur les végétaux

Les dépôts des aérosols sur les végétaux ont de multiples impacts, principalement sur les feuilles, où ils altèrent simultanément :

- l'humidité à la surface foliaire,
- les échanges gazeux avec l'atmosphère,
- la photosynthèse et,
- la sensibilité aux agents pathogènes comme les microbes et les insectes (Boucher, 2012).

Les plantes peuvent donc être utilisées comme bioindicateurs et "biosurveillants" de la pollution de l'air. Les capacités d'interception des poussières des plantes peuvent être exploitées pour les utiliser comme puits pour les polluants atmosphériques particuliers (Ram et al., 2015).

II.5. Notions de spectroscopies et de rayonnements

II.5.1. La spectroscopie Raman

II.5.1.1. Historique

Lorsqu'un rayonnement traverse un milieu transparent, les molécules diffusent une partie du faisceau incident dans toutes les directions. En 1928, le physicien indien Chandrasekhara Venkata Raman a découvert que la longueur d'onde d'une petite fraction du rayonnement diffusé par certaines molécules était différente de celle du rayonnement incident et que, de plus, les déplacements de longueur d'onde dépendaient de la structure chimique des molécules responsables de la diffusion. Cette découverte, ainsi que l'étude systématique du phénomène, lui valurent le prix Nobel de physique en 1931 (Skoog et al., 2003).

Dans le domaine de l'imagerie, la résolution spatiale de l'ordre du μm permet des analyses topologiques ou cartographiques d'excellente qualité et plus détaillées que celles obtenues en infrarouge, où la résolution est moins bonne. Par contre, les applications en analyses quantitatives sont moins nombreuses qu'en infrarouge du fait de l'effort expérimental nécessaire pour la mesure et l'étalonnage des intensités des bandes Raman (Barbillat et al., 2009).

II.5.1.2. La diffusion Raman

La diffusion du rayonnement a été étudiée depuis la fin du XIXe siècle, avec des applications qui ont commencé peu de temps après. Les premières applications quantitatives de la diffusion, qui datent du début du XXe siècle, ont utilisé la diffusion élastique de la lumière pour déterminer la concentration de particules colloïdales en suspension (Harvey, 2000).

La théorie de la diffusion Raman montre que ce phénomène trouve son origine dans des modifications quantitatives vibrationnelles de même nature que celles associées à l'absorption dans l'infrarouge. La différence de longueur d'onde incidente et l'onde diffusée, toutes deux dans le visible, correspondent aux longueurs d'onde de l'infrarouge moyen. En effet, le spectre de diffusion Raman d'une molécule donnée ressemble beaucoup à son spectre d'absorption dans l'infrarouge. Il existe cependant suffisamment de différence entre ces deux techniques pour les rendre complémentaires plutôt que compétitives. Dans certains cas, la méthode infrarouge constitue un meilleur outil ; dans d'autres cas, la spectroscopie Raman fournit des informations plus utiles (Skoog et al., 2003 ; Griffiths et De Haseth, 2007).

La diffusion Raman est issue de l'interaction lumière-matière et résulte des vibrations moléculaires et cristallines. La lumière diffuse contient une information unique et caractéristique des vibrations des liaisons de la molécule sondée. La diffusion Raman est liée à la vibration de la polarisabilité de la molécule lors d'une transition vibrationnelle de l'état i vers l'état j . L'activité Raman des modes de vibration peut être prévue en fonction de la géométrie et de la symétrie de la molécule (Falgayrac, 2006). La Spectroscopie Raman est une technique de dispersion, pas d'absorption comme l'IRTF (Leng, 2008).

Etant une technique complémentaire de l'infrarouge, elle possède un avantage important sur l'infrarouge résidant dans le fait que l'eau n'y est pas une source d'interférence, les spectres

Raman peuvent donc être obtenus à partir de solutions aqueuses. De plus, on peut utiliser des cellules en verre ou en quartz, ce qui évite les inconvénients liés à l'utilisation de fenêtres en chlorure de sodium ou en tout autre matériau sensible à l'humidité atmosphérique. En dépit de ces avantages, la spectroscopie Raman ne fut guère utilisée par les chimistes avant l'arrivée, dans les années 60, des lasers qui ont facilité énormément la mesure des spectres. La fluorescence de l'échantillon ou d'impuretés présentes dans celui-ci a constitué un deuxième obstacle à l'utilisation générale de la spectroscopie Raman. Ce problème est actuellement résolu grâce à l'utilisation de sources laser dans le proche infrarouge (Skoog et al., 2003 ; Potgieter-Vermaak et al., 2006).

La spectroscopie Raman s'implante dans le domaine de l'analyse non destructive grâce au progrès réalisés sur les spectromètres ainsi que sur la chimiométrie, dans des secteurs variés. Les scientifiques ont de nombreuses raisons de vouloir établir les spectres Raman des composés. Tout d'abord, plusieurs des bandes qui sont faibles dans le spectre infrarouge sont parmi les plus fortes dans le spectre Raman. Par exemple, l'étirement des bandes S-S et C=C est souvent faible pour être essentiellement non reconnaissable dans le spectre IR ; mais dans le spectre Raman, il est typique (Griffiths et De Haseth, 2007).

Les microscopes Raman sont plus couramment utilisés pour la caractérisation des matériaux que les autres instruments Raman. Ils sont en mesure d'examiner les zones microscopiques des matériaux en concentrant le faisceau laser jusqu'au niveau du micromètre sans grande préparation de l'échantillon tant qu'une surface de l'échantillon est exempte de contamination. Cette technique devrait être appelée Raman microspectroscopie car la microscopie Raman n'est pas utilisée principalement pour l'imagerie fine, similaire à la microspectroscopie IRTF. Une différence importante entre microscopie Raman et la microspectroscopie IRTF est la résolution spatiale. La résolution spatiale de la microscopie Raman est au moins d'un ordre de grandeur plus élevé que le microscope IRTF (Leng, 2008).

II.5.1.3. Microscopie confocale

Un développement relativement récent des techniques de microanalyse Raman résulte de l'application des principes de la microscopie confocale qui a largement contribué à l'amélioration de la résolution spatiale, particulièrement axiale, des méthodes de microanalyse spectrale. Un microscope classique dans lequel tout le champ observé est illuminé, souffre

d'une faible résolution axiale qui ne permet pas la discrimination en profondeur des images des différents plans d'un objet épais.

Le principe du microscope confocal consiste à éclairer ponctuellement l'échantillon à partir d'une source laser (souvent mais ce n'est pas une condition nécessaire) et à effectuer un filtrage spatial du signal provenant de l'échantillon par un diaphragme de très petit diamètre placé dans le plan image du microscope, là se forme l'image agrandie de l'échantillon. La focalisation du faisceau laser par un objectif de microscope à la surface de l'échantillon permet d'analyser un volume d'environ $2 \mu\text{m}^3$ dans le cas de solides isotropes, homogènes et transparents.

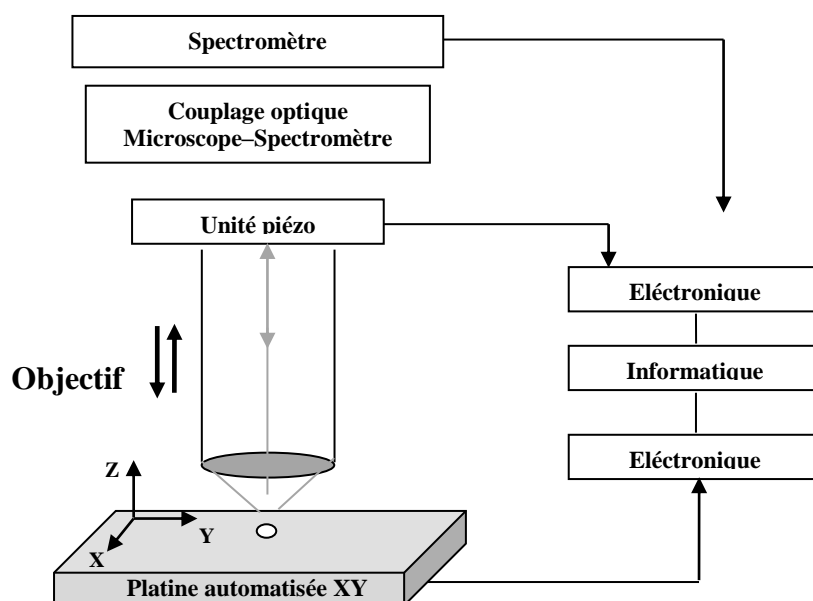


Figure II-6 : Schémas de principe d'un Microscope Raman confocal (Sobanska et al., 2006).

L'opérateur choisit une zone à cartographier de dimensions connues (X,Y), ce qui permet d'enregistrer un nombre de spectres égal à X x Y pixels qui déterminera une image optique, et à chaque pixel correspond un spectre. L'utilisation de platines de déplacement micrométrique permet de construire point par point une image Raman de la distribution spatiale des produits et des autres éléments présents dans l'échantillon. Les nouveaux instruments sont capables de réaliser l'analyse locale, non destructives, d'un volume de matière dont les dimensions sont inférieures au micromètre et les masses des échantillons inférieures au milligramme.

II.5.1.4. Domaines d'application

La dispersion de la diffusion Raman donne l'emprunte cristalline, amorphe et liquide des phases et convient pour une caractérisation des particules (Sobanska et al., 2006). Le recours à

cette technique permet d'accéder directement à une information moléculaire. De nombreux domaines d'application sont offerts par la technique de la spectroscopie Raman ; ces applications sont basées sur quelques caractéristiques importantes pouvant être résumées par :

a. le spectre caractéristique de l'échantillon peut en général être obtenu à n'importe quel état de l'échantillon : gazeux, liquide ou solide. En particulier la très faible diffusion de la molécule d'eau fait de l'effet Raman un outil de choix pour l'étude des solutions aqueuses, par opposition à la spectroscopie infrarouge pour laquelle les bandes d'absorption de l'eau rendent les mesures impossibles ou très difficiles ;

b. Il s'agit d'une technique optique non destructive qui se satisfaisait d'échantillons de très petite taille et qui en outre peut être utilisée à distance par l'intermédiaire de fibres optiques ;

c. Par ailleurs, la gamme actuelle des rayonnements d'excitation permet le plus souvent de s'affranchir de la fluorescence et il est souvent possible de travailler sans préparation particulière de l'échantillon ;

d. Cette technique est donc susceptible d'applications nombreuses, même dans des milieux peu accessibles (haute pression, température extrême, environnement toxique ou radioactif) (Barbillat et al., 2009).

Selon Leng (2008), La microscopie Raman est de plus en plus utilisée pour la caractérisation des matériaux, y compris : L'identification de phases de solides polymorphes, l'identification de polymères, la détermination de la composition, la détermination de la déformation résiduelle, et la détermination de l'orientation cristallographique.

II.5.1.5. Applications en environnement

La spectroscopie Raman est utilisée depuis les années 1970 pour l'identification des particules atmosphériques inhalables et des cendres volantes produites par les centrales thermiques, en conjonction avec la microscopie à balayage équipée pour la microanalyse (Rosasco, 1980).

Les composés inorganiques facilement identifiables sont les minéraux courants : les silicates (dont les fibres d'amiantes), la plupart des oxydes et sulfures métalliques, les carbonates, phosphates et sulfates. Quelques composés organiques sont également aisément identifiables : certains pesticides et insecticides, les acides aliphatiques (acides gras), les polymères courants et quelques peptides (Goipyron, 1981).

La microscopie Raman a été plus spécifiquement utilisée pour l'analyse de poussières provenant d'une usine de production de métaux non ferreux (Pb, Zn, Cd et Cu) et issues d'un sol pollué (Zn, Pb et Cd) afin d'obtenir une spéciation des métaux polluants. Une autre utilisation de la microspectrométrie Raman concerne l'analyse de grains de sédiments naturels. Cette technique a permis d'une part d'identifier les constituants du sédiment : quartz, calcite, oxydes et sulfures de fer, et d'autre part de donner leur répartition à la surface des grains par cartographie Raman confocale (Boughriet et al., 1997).

L'utilisation de la spectrométrie Raman dans la caractérisation et l'étude des divers ciments et dérivés a été étudiée par intermittence au cours des trois dernières décennies. Contrairement à l'application de la spectroscopie infrarouge, l'application réussie de la spectrométrie Raman en ciment est toujours en cours d'investigation et de discussion, ce qui a été bien établi comme une technique pour identifier et évaluer les différentes phases des ciments. Le potentiel de la spectrométrie Raman pour la caractérisation des minéraux purs des phases de ciment a été tout d'abord démontré par Bensted en 1976 utilisant une source d'excitation dans le visible (Potgieter-Vermaak et al., 2006).

La spectroscopie laser-Raman est largement complémentaire de la spectroscopie infrarouge, mais l'interprétation spectrale est plus simple. Les vibrations faibles ou inexistantes dans l'infrarouge peuvent être fortes dans le Raman et inversement, d'où la complémentarité des deux techniques (Bensted, 1976).

II.5.2. Spectroscopie infrarouge

II.5.2.1. Historique

Jusqu'aux débuts des années 1980, on utilisait surtout dans l'infrarouge moyen, des appareils dispersifs à résolution de diffraction. Cependant, depuis cette époque, on a assisté à des modifications spectaculaires de l'instrumentation, si bien que la majorité des nouveaux appareils sont des spectromètres à transformée de Fourier relativement peu coûteux. Au cours de la décennie 1990–2000, le champ d'application de l'infrarouge moyen a été étendu. Ce développement accru est la conséquence logique de l'amélioration du rapport signal/bruit et des limites de détection qui sont l'apanage des appareils interférométriques. Avant l'apparition de ce type d'appareil, le domaine de l'infrarouge moyen était réservé à l'analyse qualitative organique et à la détermination de la structure, toutes deux basées sur les spectres d'absorption. Actuellement, l'infrarouge moyen commence à être exploité dans l'analyse quantitative

d'échantillons complexes, à la fois par spectrométrie d'absorption et d'émission (Skoog et al., 2003).

La spectroscopie infrarouge moderne est un outil polyvalent permettant l'analyse qualitative et quantitative de nombreuses espèces moléculaires. Le domaine infrarouge du spectre correspond aux radiations de nombres d'onde compris entre environ 12.800 et 10 cm^{-1} , ou des longueurs d'onde comprises entre 0,78 et 1000 μm . Pour plus de facilité, on partage l'infrarouge en trois domaines : l'infrarouge proche, moyen et lointain. Les limites de chacun de ces domaines sont données au tableau II-9.

Tableau II-9 : Domaines du spectre infrarouge

| Région | Domaine de longueur d'onde /μm | Domaine de nombre d'onde /cm^{-1} | Domaine de fréquence /Hz |
|------------------------|---|--|---|
| Proche | 0,78 – 2,5 | 12800 – 4000 | $3,8 \times 10^{14}$ à $1,2 \times 10^{14}$ |
| Moyen | 2,5 – 50 | 4000 – 200 | $1,2 \times 10^{14}$ à $6,0 \times 10^{12}$ |
| Lointain | 50 – 1000 | 200 – 10 | $6,0 \times 10^{12}$ à $3,0 \times 10^{11}$ |
| Le plus utilisé | 2,5 – 15 | 4000 – 670 | $1,2 \times 10^{14}$ à $2,0 \times 10^{13}$ |

La découverte de la région du proche infrarouge (PIR) est attribuée à William Herschel qui présenta en avril 1800 un travail intitulé "Experiments on the Refrangibility of the Invisible Rays of the Sun" devant la Royal Society. Mais il a fallu attendre 1881 pour qu'Abney et Festing enregistrent les spectres de plusieurs liquides organiques et 1905 pour que Coblenz enregistre les spectres de 19 substances et postule que ces bandes puissent faire partie d'une série d'harmoniques (Lachenal, 1998).

En 1929 Ellis, dans une revue, cite 44 travaux concernant l'absorption de liquides organiques et en 1954 Kaye fait une revue des travaux du proche infrarouge et cite déjà 106 références. Après 1950 les industriels comme Kodak, Shell, ICI Plastic division etc. s'intéressent aux applications du proche IR. En 1954 un spectrophotomètre équipé d'un détecteur photoélectrique, le Cary 14, fit son apparition et permit le développement de nombreuses recherches et le potentiel de l'analyse quantitative proche IR fut reconnu. L'ère moderne de l'analyse PIR était née, et les améliorations continues jusqu'à nos jours permettent au proche IR d'apporter des solutions analytiques dans des domaines très variés (Lachenal, 1998).

II.5.2.2. La transformée de Fourier

Nous décrivons ici une spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) pour la détermination rapide de la composition des poussières déposées sur les conifères, et pour identifier les minéraux "accessoires" pouvant influencer cette composition. Ceci peut être considéré comme faisant partie de l'évolution actuelle et rapide de la Spectroscopie IRTF dans l'analyse des matériaux complexes. Dans notre cas, la Spectroscopie infrarouge n'a pas été utilisée dans l'analyse quantitative des poussières.

La Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est la technique de spectroscopie de vibrations la plus largement utilisée. C'est une spectroscopie infrarouge dans laquelle la méthode à transformée de Fourier est utilisée pour obtenir un spectre infrarouge dans toute une gamme de longueurs d'ondes, simultanément. Elle diffère de la méthode dispersive, ce qui implique la création d'un spectre en collectant les signaux à chaque longueur d'onde séparément. Actuellement, la méthode IRTF a presque complètement remplacé la méthode dispersive car elle a un rapport signal-bruit beaucoup plus élevé que celui de la méthode dispersive (Leng, 2008).

Un spectre FTIR est généralement exprimé en un spectre de transmittance, dans lequel les pics de bande de vibrations pointent vers le bas. Il peut également être exprimé comme un spectre d'absorption, dans les vibrations, les pics de bande pointent vers le haut. Pour une analyse quantitative, un spectre d'absorption doit être utilisé car les sommets d'un spectre de transmittance ne sont pas linéairement proportionnels à la concentration (Leng, 2008).

II.5.2.3. Domaines d'application de la spectroscopie infrarouge

Les applications de la spectroscopie infrarouge se classent en trois grandes catégories basées sur les trois régions spectrales de l'infrarouge. La région la plus utilisée et l'infrarouge moyen qui s'étend de 670 à 4000 cm^{-1} (2,5 à 14,9 μm) où l'on utilise les spectres d'absorption, d'émission et de réflexion dans des buts d'analyse qualitative et quantitative (Skoog et al., 2003 ; Leng, 2008).

Le proche infrarouge, de 4000 à 14000 cm^{-1} (0,75–2,5 μm), est aussi très utilisé pour l'analyse quantitative de routine de certaines espèces : l'eau, le dioxyde de carbone, le soufre, les hydrocarbures de faible masse moléculaire, les molécules contenant un groupement fonctionnel amine, ainsi que beaucoup d'autres molécules simples que l'on rencontre dans l'agriculture et l'industrie. Le domaine infrarouge lointain a été initialement exploité pour déterminer les

structures d'espèces inorganiques et d'espèces organométalliques à partir de mesures d'absorption (Skoog et al., 2003).

II.6. Diffraction des rayons X (DRX)

II.6.1. Historique

Les méthodes de diffraction des rayons x sont les plus efficaces pour la détermination de la structure cristalline de matériaux. Ces méthodes peuvent identifier des composés chimiques par leur structure cristalline, non leur composition chimique élémentaire. Cela signifie que les différents composés (ou phases) qui ont la même composition peuvent être identifiés. Les méthodes de diffraction comprennent la diffraction des rayons X, la diffraction des électrons et la diffraction des neutrons. La diffraction des rayons X par cristaux a été découverte en 1912 et depuis, elle a été la technique la plus largement étudiée et utilisée pour la caractérisation des matériaux (Leng, 2008).

L'analyse de la structure d'un corps cristallisé par la diffraction des rayons X (DRX) remonte au début du XX^{ème} siècle. Le phénomène a été découvert par Max Von Laue, puis largement étudié par sir William Henry Bragg et son fils sir William Lawrence Bragg. La technique proprement dite de diffraction de rayons X sur poudre fut développée parallèlement par Peter Debye et Paul Scherrer (Debye et Scherrer, 1916) et Albert Wallace Hull (Hull, 1917).

La diffraction des rayons X est une méthode universellement utilisée pour identifier la nature et la structure des produits solides. En effet, cette méthode ne s'appliquait jusqu'à récemment qu'à des milieux cristallins (roches, cristaux, minéraux, pigments, argiles...) présentant les caractéristiques de l'état cristallin, c'est-à-dire un arrangement tri périodique ordonné et dont les plans réticulaires plus ou moins denses sont désignés par leurs indices (hkl) dans un système de coordonnées spatiales. La méthode permet ainsi clairement de distinguer les produits amorphes (verres) des produits cristallisés. La diffraction des rayons X sur poudre est une méthode d'analyse de phases non destructive (Whiston, 1996 ; Eberhart, 1997).

Le diffractomètre de rayons X a été conçu pour l'examen des échantillons de poudre. Cependant, le diffractomètre est souvent utilisé pour l'examen des échantillons d'agrégats cristallins autres que la poudre. Les échantillons solides polycristallins et même liquides peuvent être examinés. Mais un échantillon doit contenir un grand nombre de petits cristaux (ou grains) qui s'orientent au hasard dans un espace tridimensionnel, parce que les données

standard de diffraction des rayons x sont obtenues à partir des échantillons de poudre d'orientation parfaitement aléatoire. Les meilleures méthodes de préparation des échantillons sont celles qui permettent aux analystes d'obtenir l'information désirée avec le moins de traitement parce que la contamination chimique peut se produire durant le traitement de l'échantillon (Leng, 2008).

Les rayons X sont les ondes électromagnétiques, comme la lumière visible, mais leur longueur d'onde est beaucoup plus courte, dans l'ordre de 0,1 nm. Les méthodes de diffraction des rayons X sont basées sur le phénomène d'interférences des ondes. Deux ondes de lumière avec la même longueur d'onde et se déplaçant dans la même direction peuvent renforcer ou s'annuler les uns les autres, selon leur différence de phase. Quand ils ont une différence de phase de $n\lambda$ (n est un nombre entier), appelé 'in phase', il se produit des interférences constructives. Lorsqu'ils ont une différence de phase de $n\lambda/2$, appelé «completely out of phase», il se produit des interférences totalement destructrices (Leng, 2008).

Dans un réseau cristallin, le rayonnement X diffusé est diffracté car les distances interatomiques du réseau cristallin sont du même ordre de grandeur (Å) que la longueur d'onde d'un rayon X comprise entre 5 pm et 10 nm.

Les paramètres expérimentaux sont déterminés par la condition de Bragg qui comporte deux paramètres expérimentalement variables, θ et λ :

$$2 d_{(hkl)} \sin\theta = n \lambda$$

où d_{hkl} est la distance entre les plans réticulaires (hkl); θ , le demi-angle de déviation que fait le rayon incident avec les plans réticulaires; n , l'ordre de réfraction ($n = 1$) et λ , la longueur d'onde du rayonnement incident (Eberhart, 1997 ; Leng, 2008). Au final, le rayonnement X n'est réémis que dans les directions de l'espace pour lesquelles les interférences entre les ondes diffractées sont positives. Ces directions sont appelées pics de diffraction et sont données par la loi de Bragg.

II.6.2. Domaines d'application de la diffraction des rayons X

Le diffractomètre pour poudres, compte parmi les appareils les plus utilisés actuellement dans le monde industriel et de la recherche, à cause de sa simplicité et de sa généralité d'emploi. Par contre, le diffractomètre pour monocristaux permettant l'étude des structures des cristaux est

surtout utilisé dans les instituts de cristallographie de chimie et de biologie. Actuellement, on assiste à l'utilisation de synchrotrons dont la technique est basée sur le principe de l'émission d'un rayonnement par des particules chargées accélérées à des vitesses proches de la célérité. Cette technique permet d'étudier les couches minces et très récemment les matériaux amorphes.

En contrôle de l'environnement, on peut pressentir que cette possibilité est très intéressante. Dans ce domaine d'ailleurs, il faut savoir que les échantillons sous forme d'une petite quantité de matière, déposée sur un filtre (en film plastique ou en fibre de cellulose), permettent une analyse qualitative plus rapide que sur échantillons massifs (Quisefit, 1996).

II.6.3. Spectres des rayons X

Le spectre des rayons X est l'ensemble des longueurs d'onde des rayons X émis par une anticathode donnée (Ouahes, 1995). Les rayons X sont des ondes électromagnétiques que l'on retrouve dans le large domaine des radiations qui va depuis les longueurs d'ondes très courtes de l'ordre de 10^{-4} nm jusqu'à celles de l'ordre de plusieurs kilomètres. Ils sont produits par bombardement de la surface d'un solide par des rayons cathodiques ou faisceaux d'électrons accélérés par des tensions variant entre 10^3 et 10^6 volts.

La diffraction des rayons X sur des poudres cristallines fournit une série de valeurs des distances réticulaires mesurées. L'identification des substances solides est une application essentielle. Chaque solide cristallisé peut être caractérisé par son diagramme de poudres. Ce diagramme est décrit par les distances interréticulaires $d(hkl)$ et par les intensités diffractées correspondantes (Ouahes, 1995). A chaque $d(hkl)$ mesurée, caractéristique du réseau cristallin, lui correspond une intensité diffractée spécifique de la structure et que chaque solide cristallisé a son propre diagramme de poudres (Rebbah et Rebbah, 1993 ; Eberhart, 1997).

L'analyse consiste à comparer les valeurs obtenues $d(hkl)$ obtenues aux valeurs classées du fichier. On utilise d'abord les $d(hkl)$ correspondant aux intensités élevées, puis on identifie l'ensemble du diagramme (Ouahes, 1995).

Chapitre 3

Matériels et méthodes

III.1. Présentation et situation géographique de la zone d'étude

La zone concernée par le présent travail se situe sur les hauts plateaux rocheux de la wilaya de Constantine, au nord-est de l'Algérie (Figure III-1 a), à 640 mètres en moyenne au-dessus du niveau de la mer.

La zone est délimitée entre les latitudes 36°30' nord, 36°70' sud et les longitudes 6°45' est, 6°20' ouest. Elle est située dans la commune de Constantine qui se trouve à 900 m d'altitude et de Hamma Bouziane qui se trouve dans une dépression d'environ 525 m d'altitude.

Plusieurs sites sont répertoriés pour effectuer des prélèvements suite à un multiple parcours sur terrain puis numérotés de S1 à S5, sélectionnés à différentes distances d'une cimenterie, localisés dans des milieux naturels situés à la périphérie de la ville de Constantine. Les échantillons de plantes sont collectés à proximité de la cimenterie pour le site S2, localisé dans une dépression de 525 m d'altitude ; dans un rayon d'un kilomètre pour le site S3 ; 15 km pour le site S4 ; 10 km pour S5 et 30 km pour le site S1, considéré comme station témoin, vu qu'il est situé à une altitude de 1200 m et ne présentant aucune source de pollution apparente (Figure III-1 b).

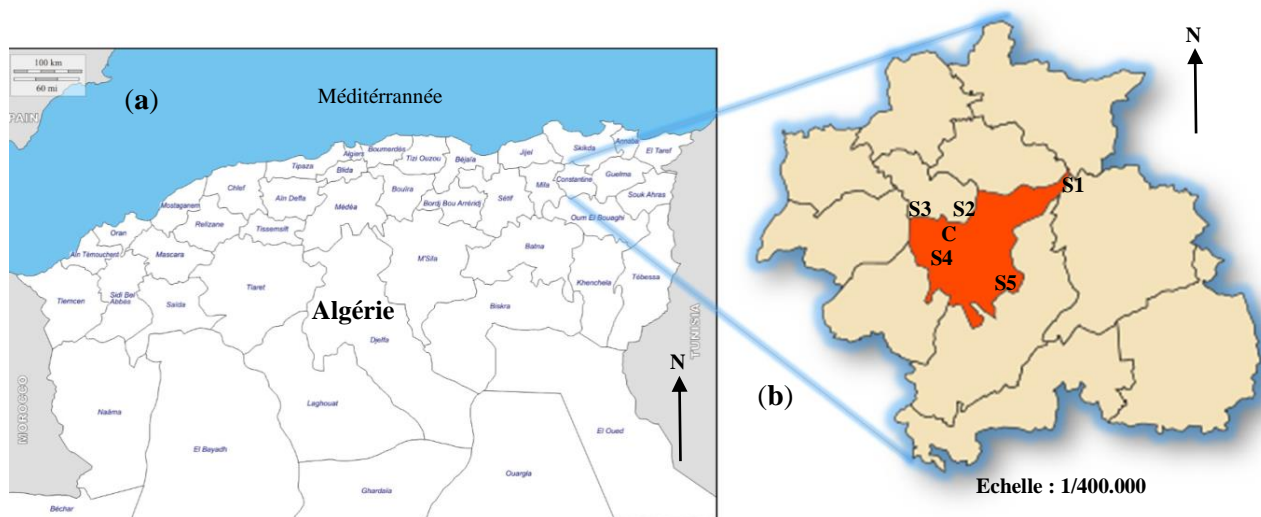


Figure III-1 : Situation géographique de (a) Constantine et (b) de la zone d'étude et localisation des sites de prélèvements

La cimenterie Jouad Tahar de Hamma Bouziane, située à 9 kilomètres au nord de Constantine, à 525 m d'altitude et une surface de 48 hectares dont 25990 m² couverts, produit 3000 tonnes par jour de clinker destiné à la production de CPA₄₀₀ et CPA₃₂₅, par procédé à voie sèche.

Certains sites sont plus favorables à la pollution comme les fonds de vallées où les inversions thermiques sont nombreuses (Escourrou, 1996), cas des deux stations d'étude situées dans la localité de Hamma Bouziane.

III.2. Aperçu climatique de la région de Constantine

Du fait de sa situation géographique, la région de Constantine, bénéficie d'un climat méditerranéen sub-humide au nord à semi aride au sud, à hiver froid et pluvieux avec une température hivernale moyenne de 7 °C, une température minimale de 2,1 °C et des minima absolus pouvant atteindre -3 °C. En été, le climat est chaud et sec, les températures peuvent atteindre en moyenne 25,2 °C avec un maximum de 33,3 °C (O.N.M., 2012).

Les précipitations sont irrégulières et insuffisantes. Ces conditions météorologiques sont très défavorables à la dispersion des polluants dans l'atmosphère. Car, d'une façon générale, les risques sont plus importants quand les vents sont faibles et l'air stable. On peut conclure que cette configuration météorologique est la plus fréquente en été à Constantine par temps chaud, ensoleillé et peu éventé favorisant un climat de pollution.

Le trafic automobiles, l'industrie et l'incinération des déchets constituent les principales sources de pollution atmosphérique en Algérie. En zone urbaine, la pollution de l'air est provoquée essentiellement par l'intensité du trafic automobile, aggravée par la vétusté du parc.

III.3. Choix du matériel végétal

L'étude a porté sur l'utilisation d'espèces végétales pérennes, pour l'évaluation d'une pollution d'origine industrielle située dans la wilaya de Constantine. Nous avons recensé un ensemble d'arbres, et retenu deux essences largement utilisées comme plantes ornementales pérennes dans le milieu : le cyprès (*Cupressus sempervenis* L.) et le Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.).

Les conifères sont cependant des arbres peu exigeants, susceptibles de se développer dans les sols les plus pauvres. Ils secrètent des huiles essentielles et des résines qui leurs communiquent une odeur vive, d'où le nom de résineux par lequel on les désigne généralement (Role, 1965).

Ce choix est lié à quelques raisons essentielles ; d'abord, comme les espèces préconisées sont répandues en milieu naturel dans la région, elles pourront alors être susceptibles de traduire au mieux l'ampleur et la distribution de la pollution, principalement celle relative aux particules en suspension, et puis, ces arbres paraissent parmi les plus utilisés pour détecter la pollution, dans de nombreux travaux. L'utilisation des feuilles des végétaux ligneux contribue ainsi à la quantification de la pollution de l'air par les rejets industriels, dans ce travail, il s'agit de l'usine de production du ciment. Ce choix est également lié au problème de dépérissement qui touche les deux espèces d'importance économique et écologique.

III.4. Echantillonnage et prélèvements

Les plantes fournissent une énorme surface foliaire de contact pour l'absorption et l'accumulation de polluants atmosphériques afin de réduire le niveau de polluants dans l'air (Shannigrahi et al., 2004). Les feuilles, partie sensible et fortement exposée de la plante, peuvent agir comme absorbeurs persistants dans un environnement pollué (Samal et Santra, 2002). Elles agissent comme des récepteurs de la pollution et réduisent la concentration de poussière de l'air.

Les prélèvements sont réalisés au niveau des cinq stations selon l'échantillonnage aléatoire simple. Une première série d'échantillons de poussières a été collectée à proximité d'une cimenterie dans des boîtes de pétri ayant séjourné pendant 3 jours à l'air libre au niveau du sol. Une seconde série d'échantillons a été collectée dans un rayon de 30 km, sur la partie aérienne des végétaux supérieurs préconisés dans ce travail.

De toutes les parties de la plante, la feuille est la partie la plus sensible aux polluants atmosphériques et plusieurs autres des facteurs externes (Lalman et Singh, 1990). Les feuilles sont prélevées minutieusement deux semaines après les dernières pluies, selon les recommandations de Harrison et al., (1981), dans la partie médiane de l'arbre, puis conservées dans des sacs en plastique pour éviter la dispersion des poussières.

Les feuilles sont des organes verts, lieu de photosynthèse active, productrice de grandes quantités de glucides puis de matières organiques azotées dont la synthèse exige des molécules de glucides. Une fois formées, les matières organiques sont partiellement utilisées sur place. Une grande partie émigre vers d'autres organes, dont un certain pourcentage est immédiatement utilisé pour la croissance ou dans les phénomènes d'entretien cellulaire. A

d'autres périodes du cycle végétatif, au moment où les besoins en matière organique sont supérieurs au pouvoir de synthèse de la plante, ces réserves se solubilisent et migrent vers les points de la plante où les besoins sont les plus intenses (Camefort, 1972).

III.5. Protocole expérimental de collecte des poussières

III.5.1. Mode d'échantillonnage

Les prélèvements sont réalisés sur des haies le long de routes à densité de trafic routier moyenne à forte pendant le jour au niveau des stations S2, S3, S4 et S5, très faible à nulle au niveau de la station S1, considérée comme station témoin.

Quatre répétitions d'échantillons de poussières sont recueillies sur le système foliaire des essences considérées et d'autres dans des boîtes de pétri ouvertes (5 échantillons de 4 répétitions chacun, pour chaque station), déposées pendant cinq jours à l'air libre, au niveau des mêmes stations. Les analyses spectroscopiques ont été réalisées sur ces mêmes échantillons.

Il importe de tenir compte de l'ensemble des altérations possibles. Il s'agit de réactions de la plante, qui précèdent l'apparition des symptômes visibles et qui ne peuvent être mises en évidence que par le recours à des techniques spéciales d'observation et d'analyse. Elles comprennent : les altérations biochimiques, métaboliques et structurales.

Les essais d'évaluation des paramètres biochimiques sont réalisés sur les feuilles d'un second échantillonnage prélevé au même niveau du même arbre simultanément. Les feuilles utilisées pour lavage sont conservées, après traitements pour l'estimation ultérieure des surfaces foliaires.

III.5.2. Lavage des feuilles en vue d'estimer les dépôts de particules

Les techniques de lavage des feuilles s'insèrent dans l'étude du pouvoir de fixation-rétention des poussières par les plantes et sont indispensables pour le dosage d'éléments structurels. Afin de mesurer l'importance des dépôts superficiels, on a eu recours à la technique de lavage de Stenbock-Farmer (1978).

III.5.2.1. Les solutions de lavage

La littérature suggère l'utilisation de solutions acides. Il nous a semblé intéressant de comparer l'action d'un acide minéral fort (acide chlorhydrique) à celle d'un sel bisodique, l'éthylène

diamine tétra acétique (EDTA) à 5g/l fréquemment préconisé. L'EDTA, chélateur efficace, est un détergent dont la technique d'utilisation est considérée comme la plus efficace pour l'extraction des poussières (Taylor, 1956 cité par Stenbock-Farmer, 1978).

III.5.2.2. Description de l'essai

Deux essais sont réalisés : dans le premier, l'EDTA est utilisé comme solution de lavage. Dans le second, c'est l'HCl. Il y a lieu de comparer les quantités de poussière extraites pour chaque solution pendant des temps de traitement de 5 et de 10 minutes. La description des essais de lavage se fait comme affiché dans le tableau III-1.

Tableau III-1 : Description des essais de lavage des feuilles.

| | <i>Pinus halepensis</i> | <i>Cupressus sempervirens</i> |
|------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Nombre d'aiguilles/lot | 40 | 20 |
| Durée des traitements | 5 min 10 min | 5 min 10 min |
| Nombre de traitements | 5 | 5 |
| Nombre de répétitions | 3 | 3 |

Chaque lot de feuilles est placé dans un Erlen Meyer contenant 100 ml de solution de lavage, agité sur agitateur magnétique (≈ 100 tours/min) pendant 5 ou 10 minutes. Les feuilles sont ensuite enlevées de la solution. Les solutions empoussiérées et les références (solutions agitées sans feuilles) sont filtrées sur filtre Millipore ($45\mu\text{m}$) préalablement tarés à travers un dispositif de filtration Sartorius (GSWP 0470024 ea GS 0,22 White plain).

Les Erlen Meyers sont lavés avec 50 ml d'eau bidistillée que l'on filtre également. Le dispositif de filtration précédent le filtre est aussi rincé avec 50 ml d'eau bidistillée. Les filtres sont mis à évaporer à $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 20 heures dans des boîtes de Pétri, puis placés dans un dessiccateur jusqu'à ce qu'ils atteignent la température ambiante de 20°C . Les filtres empoussiérés sont pesés de même que les filtres références sur une balance de précision (Sartorius) au $1/1000^{\text{ème}}$ du mg.

III.6. Détermination des teneurs en métaux dans le tissu foliaire

La spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme (SAA) est appliquée pour le dosage des métaux dans les tissus. De chaque échantillon de tissu de verticilles et d'aiguilles collectés

sur les conifères, trois répétitions de 1 g chacune sont incinérées dans un four à moufles à 550°C pendant une heure, puis mélangées à 10 ml d'acide nitrique concentré (pH < 2) et laissées au repos pendant une nuit. Le mélange est ensuite chauffé sur plaque jusqu'à obtention d'une fumée rouge. Après refroidissement, 4 ml d'acide perchlorique (70 %) sont ajoutés goutte à goutte, jusqu'à évaporation d'un faible volume. Après refroidissement, la solution est filtrée puis diluée à 50 ml et prête au dosage (Perkin Elmer AAS Manual).

Le minéralisât est atomisé. Pour chacun des éléments métalliques, une gamme d'étalonnage est réalisée à partir des solutions mères. Les courbes d'étalonnage sont représentées par la fonction $DO=f(C)$ où DO est la densité optique ou absorbance. Les valeurs de densité optiques obtenues sont retenues dans le cas où elles appartiennent à la zone linéaire.

Une courbe d'étalonnage est alors établie à partir des solutions de concentrations connues pour chacun des éléments concernés. Le logiciel de l'appareil trace la droite de régression présentant la variation de l'absorbance en fonction de la concentration et détermine le coefficient de corrélation R^2 . Les équations relatives aux courbes d'étalonnages effectuées sont les suivantes :

$$y (\text{Cu}) = 0,000923 x^2 + 0,03673x - 0,0003 \quad (R^2 = 0,9993)$$

$$y (\text{Ni}) = 0,000332 x^2 + 0,02451x - 0,0057 \quad (R^2 = 0,9997)$$

$$y (\text{Zn}) = 0,000243 x^2 + 0,02224x + 0,0081 \quad (R^2 = 0,9997)$$

$$y (\text{Mg}) = 0,005492 x^2 + 0,40362x + 0,0109 \quad (R^2 = 1,0000).$$

$$y (\text{Fe}) = 0,000443 x^2 + 0,02423x - 0,00007 \quad (R^2 = 1,0000)$$

Les solutions étalons de métaux sont préparées à l'aide de cristaux hydratés. Les lectures des concentrations sont réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique UNICAM 969 SOLAR. Afin de faire les corrections nécessaires, les blancs sont repassés régulièrement tout au long des analyses. Les analyses par spectroscopie d'absorption atomique sont réalisées à l'IUT (Institut Universitaire de Technologie) de Marseille.

III.6.1. Performances de la méthode

La limite de détection d'un élément en absorption atomique correspond, par définition, à la concentration pour laquelle l'amplitude du signal est égale à celle du bruit de fond. Au-dessous de ce seuil, le signal est noyé dans le bruit. Les paramètres opératoires des analyses en solution

aqueuse de quelques éléments, ainsi que les limites de détection sont consignés dans le tableau III-2.

Tableau III-2 : Conditions opératoires des éléments analysés en spectrophotométrie d'absorption atomique (Perkin Elmer AAS Manual).

| Elément | Longueur d'onde (nm) | Concentration caractéristique / absorbance | Flamme | Limite de détection ($\mu\text{g/l}$) |
|-----------|----------------------|--|----------------|---|
| Cuivre | 324,8 | 3,7 / 0,4 | Air –acétylène | 40 |
| Fer | 372 | 5,5 / 0,4 | Air –acétylène | 60 |
| Nickel | 341 | 5,7 / 0,4 | Air –acétylène | 63 |
| Zinc | 213,9 | 1,2 / 0,4 | Air –acétylène | 13 |
| Magnésium | 285,2 | 0,3 / 0,4 | Air –acétylène | 3 |

III.7. Méthodes spectrales

III.7.1. Spectroscopie Raman

Toutes les données ont été enregistrées sur un microscope spectromètre Raman confocal Almega (Société Thermo-Optek), piloté par ordinateur et logiciel d'acquisition OMNIC V 7.4. La diffusion Raman est obtenue après une excitation dans le visible à 532 nm et la résolution spectrale finale est de 2 cm^{-1} (Figure III-2). Le laser est focalisé à la surface de l'échantillon par un objectif x50.



Figure III-2 : Microscope Raman utilisé dans l'étude

Les cartographies ont été réalisées avec acquisition d'un spectre tous les 1 μm avec 20 secondes de temps d'acquisition par spectre. Afin d'améliorer le rapport signal/bruit, les spectres Raman des poussières ont été mesurés avec un temps d'intégration de 10s.

Le Raman est une technique totalement non destructive car elle ne nécessite pratiquement aucune préparation ou manipulation d'échantillons.

Au niveau du Laboratoire METICA, on utilise cette région du spectre infrarouge dans des études de l'analyse de solides par Réflectance Totale Atténuée (ATR).

III.8. Diffraction des rayons X (DRX)

III.8.1. Principe de la méthode

Le principe de la méthode consiste à soumettre un cristal à un rayonnement X et à enregistrer le rayonnement X réémis après avoir été diffracté dans le réseau cristallin. La réémission d'un rayonnement électromagnétique par la matière est appelée diffusion Rayleigh. Elle est liée à l'interaction entre les atomes et le rayonnement : la vibration ondulatoire du nuage électronique des atomes, induite par le champ électrique de l'onde, est à l'origine de l'émission d'une onde de même fréquence.

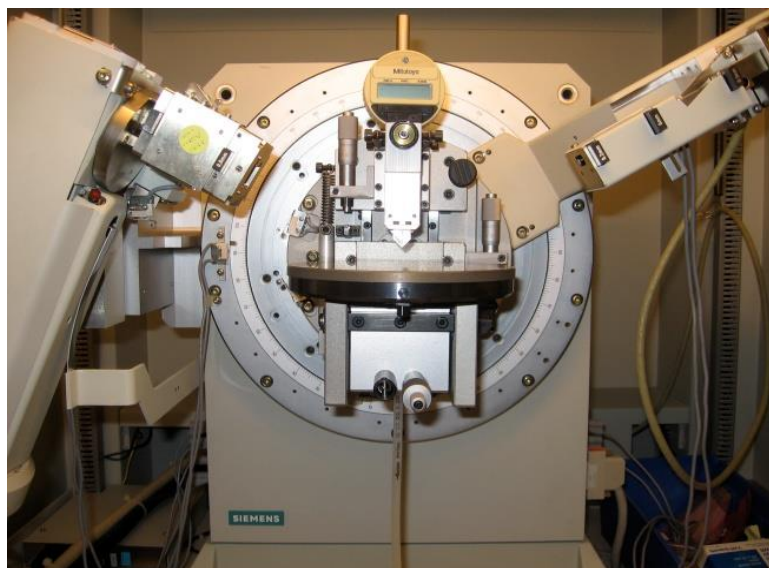


Figure III-3 : Diffractomètre automatique de poudres D-5000 Siemens utilisé dans l'étude.

Les spectres de diffractions des RX sont obtenus à l'aide d'un diffractomètre automatique de poudres D-5000 Siemens, avec une anticathode de cuivre à radiation $\lambda=1,54056$ nm. Le

domaine angulaire d'enregistrement des spectres est compris entre 10.000 et 120.000° en 2θ (Figure III-3).

Le traitement des données a été réalisé sur micro ordinateur à l'aide de la base de données de l'ICDD (International Center for Diffraction Data) par le logiciel PCPDFWIN V 1.30 et la banque de l'ASTM (American Society for Testing Materials). La mise en mémoire, la gestion de diagrammes et la soustraction de bruit de fond sont assurées par le logiciel de traitement des données : Origin 6.0.

L'identification de phases cristallines dans un spécimen ou phase cristalline est obtenue en comparant le spectre de diffraction du spécimen avec les spectres des substances cristallines connues. Les données de diffraction des rayons X d'une substance connue sont enregistrées dans un fichier de diffraction de poudre (PDF). La plupart des PDFs sont obtenus avec la raie $K\alpha$ du Cuivre. Les données de diffraction standard ont été publiées par le Centre International de données de la Diffraction (ICDD), et ils sont à jour et élargis de temps en temps. Pour une substance cristalline, il peut y avoir plus d'un fichier. Le fichier le plus récemment mis à jour est recommandé pour l'identification de phase. Les premiers PDF peuvent contenir des erreurs dans les données obtenues expérimentalement alors que les plus récemment publiés sont obtenus par des mesures expérimentales plus précises ou par calcul théorique (Leng, 2008).

III.9. Analyses biochimiques

III.9.1. Détermination des teneurs en proline

La technique du dosage de la proline utilisée est celle de Troll et Lindsley (1955) modifiée par Dreier et Goring (1974). 100 mg de matière fraîche de feuilles saines sont prélevés de chaque répétition et mis dans des tubes à essais auxquels on ajoute 2 ml de méthanol à 40%. Les tubes sont ensuite hermétiquement fermés et chauffés au bain-marie à 85°C pendant une heure. Après refroidissement, on prélève de chacun 1 ml auquel on ajoute 1 ml d'acide acétique, 1 ml du réactif à la proline et 25 mg de ninhydrine ; le tout est porté à ébullition à 100 °C pendant 30 minutes. La préparation du réactif à la proline se fait par le mélange de 120 ml d'eau distillée, 300 ml d'acide acétique et 80 ml d'acide orthophosphorique.

Après refroidissement, l'ajout de toluène (C_7H_8) sous agitation au vortex permet de distinguer deux phases : une phase supérieure contenant la proline, et une phase inférieure, aqueuse sans proline. Après récupération de la phase supérieure, 5 milligrammes de sulfate de sodium oxydé sont ajoutés (Na_2SO_4) pour éliminer l'humidité. La lecture des densités optiques des

échantillons a été effectuée à une longueur d'ondes $\lambda = 528$ nm, à l'aide d'un spectrophotomètre dans le visible (Spectronic 20D ; Ray Milton Campagny, USA).

L'étalonnage du spectrophotomètre se fait par le mélange : réactif à la proline et le calcul des concentrations se fait par l'équation déduite de la droite d'étalonnage (Annexe).

III.9.2. Détermination des teneurs en sucres solubles

Les méthodes de dosage des sucres totaux par l'antrone ont été introduites par Dreywood en 1946. Depuis, de nombreuses modifications ont été apportées. Elles portent principalement sur la concentration du réactif en antrone ou en acide sulfurique, sur la température de la réaction et sur le temps de chauffage. La technique de dosage des sucres solubles à l'antrone que nous avons utilisée est celle de Shields et Burnet (1960).

La concentration est de 2 g d'antrone pure par litre d'acide sulfurique. La solution doit être préparée au moins 4 heures avant d'être utilisée. Elle ne se conserve pas et doit être utilisée le jour même. Selon Roe (1959) cité par Shields et Burnett (1960), l'addition de 1% de thio-urée au réactif permet sa conservation pendant 2 semaines. L'acide acétique aurait la même propriété, d'après Kapuscinski et Zak (1956) cités par Shields et Burnett, 1960).

Cette technique consiste à prélever 100 mg de matière fraîche de feuilles saine de chaque répétition, dans des tubes à essais. Ensuite, 3 ml d'éthanol à 80 % sont ajoutés. Ils sont laissés à l'obscurité et à température ambiante pendant 48 heures. A chaque échantillon, après évaporation de l'éthanol, on ajoute 20 ml d'eau distillée. Ensuite, 2 ml de chaque tube sont prélevés et mis dans de nouveaux tubes auxquels on ajoute 4 ml de la solution à l'antrone à 0 °C. Hermétiquement fermés, les tubes sont agités, chauffés au bain-marie à 90°C pendant 8 minutes puis laissés à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.

La lecture des densités optiques se fait à $\lambda = 585$ nm. L'étalonnage du spectrophotomètre se fait à l'éthanol et les concentrations des teneurs en sucres solubles se calculent à partir de l'équation d'étalonnage.

III.9.3. Détermination des teneurs en chlorophylles

L'ensemble tétrapyrrolique est riche en groupes polaires azotés ou oxygénés qui lui confèrent une grande affinité pour l'eau. Les chlorophylles sont solubles dans les solvants des lipides tels que les alcools, l'éther ordinaire, l'éther de pétrole, l'acétone. La technique de la

chromatographie, si employée maintenant dans la séparation et la purification des substances chimiques a pour origine la séparation des chlorophylles a et b des feuilles. Elle fut réalisée en 1906 par le botaniste M. S. Tswett ; après avoir versé une solution des pigments des feuilles sur une colonne de carbonate, il constata que les chlorophylles et les caroténoïdes se séparaient les uns des autres, étant entraînés par le solvant à des vitesses différentes (Weinman et Méhul, 2004).

La teneur en chlorophylles est le critère le plus utilisé pour quantifier l'état général de la plante. C'est un excellent bioindicateur de pollution et de stress (Landis et Yu, 1995). Les teneurs en chlorophylles sont calculées par la technique de Witham et al. (1971) qui consiste à mettre 100 mg de matière fraîche (MF) de chaque répétition dans 10 ml d'une solution préparée préalablement de 75 % d'acétone et 25 % d'éthanol. Les échantillons sont conservés dans des boîtes noires hermétiquement fermées à 30 °C pendant 48 heures à l'obscurité. La lecture des densités optiques se fait à $\lambda=663$ nm pour la chlorophylle **a** et $\lambda=645$ nm pour la chlorophylle **b**, sur un spectrophotomètre UV-visible.

Les équations utilisées pour la détermination des teneurs en chlorophylles sont :

$$\text{Chl. a (mg/g MF)} = 12,7 \times \text{DO (663)} - 2,69 \text{ DO (645)} \times V / (1000 \times w) ;$$

$$\text{Chl. b (mg/g MF)} = 22,9 \times \text{DO (645)} - 4,68 \text{ DO (663)} \times V / (1000 \times w) ;$$

$$\text{Chl. totale (mg/g MF)} = 20,2 \times \text{DO (645)} - 8,02 \text{ DO (663)} \times V / (1000 \times w) \text{ (Witham et al., 1971).}$$

Où, DO est la densité optique à la longueur d'onde concernée pour chaque chlorophylle ; V est le volume de la solution extraite de l'extrait acetone-éthanol-chlorophylle, et w le poids de matière fraîche de l'échantillon, exprimé en grammes), et les teneurs sont exprimées en mg/g de matière fraîche.

C'est au phytol ($\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{OH}$) que les chlorophylles doivent leur solubilité dans les solvants organiques. Les chlorophylles se décolorent par oxydation. Il en est de même de la lumière intense, agent d'une photo-oxydation qui peut aboutir à la décoloration complète des feuilles (solarisation) (Weinman et Méhul, 2004).

III.10. Analyse statistique

Au vu des résultats obtenus au cours des analyses au laboratoire, différents tests statistiques ont été appliqués utilisant deux logiciels.

Les techniques chimiométriques ont fait leur preuve comme méthodes efficaces pour analyser des sets de données très complexes dans de nombreux domaines d'études, à savoir la spectroscopie infrarouge (Dupuy, 2008) ; la biologie (Andrew et al., 1998), la biochimie et l'écotoxicologie (Sinha et al., 2009).

III.10.1. Analyse en composantes principales (ACP)

L'Analyse en composantes principales est une méthode statistique essentiellement descriptive qui vise à mettre en évidence graphiquement le maximum de l'information essentielle contenue dans un tableau de données. L'ACP est une méthode statistique ancienne. C'est à Hotelling, en 1933, que l'on doit la première publication sur ce sujet et c'est même K. Pearson, en 1901, qui a entrevu les idées essentielles. Cependant, l'utilisation de l'ACP est récente ; ce n'est qu'en 1960 et l'avènement des ordinateurs que la théorie a pu être mise en pratique. C'est même seulement depuis les années 1980, et l'apparition de la micro-informatique, que l'Analyse en Composantes Principales est de plus en plus fréquemment utilisée.

L'Analyse en Composantes Principales est un outil bien établi pour l'analyse de la structure dans les "sets" de données multidimensionnels. En général, elle fournit des informations sur les paramètres plus significatifs, qui décrivent l'ensemble de données réduites avec perte minimale d'informations originales (Singh et al., 2005a). Autrement dit, l'ACP transforme p variables quantitatives initiales corrélées entre elles (inter variables) en q variables quantitatives, non corrélées, appelées composantes principales.

Les champs d'application sont aujourd'hui multiples, allant de la [biologie](#) à la [recherche économique et sociale](#), et plus récemment le [traitement d'images](#). L'ACP est majoritairement utilisée pour :

- décrire et visualiser des données ;
- les décorrélérer ; dans la nouvelle base, constituée des nouveaux axes, les variables ayant une corrélation nulle ;
- les [débruiter](#), en considérant que les axes que l'on décide d'*oublier* sont des axes *bruités*.

Une analyse en composantes principales a été effectuée sur les paramètres biochimiques et une autre sur les résultats obtenus par Absorption Atomique des métaux lourds, dont l'objectif est de présenter sous une forme graphique, un maximum d'informations à partir des tableaux de données.

III.10.2. La méthode SIMPLISMA

L'application de la méthode SIMPLISMA (SIMPLe-to-use Interactive Self-Modeling Mixture Analysis) est utilisée pour l'analyse de données spectrales acquises par spectrométrie d'imagerie Raman en mode cartographie des échantillons de poussières recueillies à proximité d'une cimenterie et dans un rayon de 30 kilomètres. La méthode SIMPLISMA permet d'extraire de nombreux spectres purs (de produits purs) pouvant se trouver dans un mélange de poussières.

L'analyse de mélange (SIMPLISMA) est une approche de variable pure réussie pour résoudre les données de mélange spectral. Une variable pure est définie comme une variable qui a des contributions significatives d'un seul des composants purs dans l'ensemble de données de mélange (Windig et al., 2002). Ensuite, la transformation d'une matrice de nombres réels en une carte couleur pixellisée est obtenue à l'aide de MATLAB. Des programmes pour la reconstruction de l'image finale ont été écrits en code MATLAB et l'affichage de la carte a également été réalisé dans l'environnement MATLAB.

III.10.3. L'analyse de la variance (Anova)

L'analyse de la variance (ANOVA) a été appliquée par le logiciel SPSS 8.0 (Statistical Product and Service Solutions) pour les comparaisons multiples dans le but de dégager l'effet station.

L'analyse de la variance est une technique statistique fondamentale qui vise à comparer des moyennes sur plusieurs échantillons. Plus exactement, elle nous permet de tester l'hypothèse de l'égalité des variances de deux populations ; et encore de calculer le test de F (Fisher-Snedecor) qui permet de vérifier l'existence significative de différences entre les moyennes de deux groupes.

Les tests de comparaisons multiples de Newman-Keuls est utilisé pour détecter des différences dans les données biochimiques entre les essences des 5 stations. Les données présentées sont la moyenne des répétitions \pm l'écart type. Les astérisques dans les tableaux et les lettres montrent des différences significatives sur les plantes des sites pollués (* P = 0,05, ** P = 0,01).

Chapitre IV

Résultats et discussion des analyses par Spectroscopie Raman

L'intérêt de la faisabilité de la spectroscopie Raman réside essentiellement dans la simplicité de la préparation des échantillons et la rapidité de l'acquisition des données. L'analyse qualitative par spectroscopie Raman des échantillons de poussières, recueillies sur le système foliaire de deux essences forestières, est effectuée dans le but d'une caractérisation chimique d'aérosols multi-composants de substances et éléments responsables des changements et dégâts observés aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur du végétal. Cet outil de caractérisation nous a permis de déterminer localement, différentes phases présentes.

Le traitement chimiométrique des données spectrales des différents échantillons a permis une identification de plusieurs produits majoritaires et d'autres minoritaires, la plupart étant des dérivés de ciments. Nous avons pu cependant, obtenir l'identification de produit pour chacune des particules ou groupe de particules analysés.

En micro-Raman, aucun dommage du matériau par le laser n'a été observé. Et, le volume de la zone à analyser est faible, en plus, l'échantillon n'étant pas homogène d'où cette hétérogénéité dans les réponses spectrales. Au cours des analyses de la poussière brute par spectroscopie Raman, des fonds de fluorescence importants sont obtenus, généralement au-delà de 1800 cm^{-1} , parfois au-delà de 1200 cm^{-1} . La région basse et située à $1200\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ a fourni la plupart des informations spectrales nécessaires pour l'identification des constituants présents dans le mélange des divers échantillons, la zone restante demeure inexploitable.

L'hétérogénéité des poussières contenues dans les échantillons a induit un recouvrement des données spectrales, ce qui a nécessité une résolution spectrale en utilisant une méthode de traitement des spectres de pixels et de reconstruire la répartition spatiale correspondante.

La méthode SIMPLISMA est alors utilisée pour extraire les spectres de composés purs des espèces chimiques présentes dans le mélange et les profils de concentrations associés.

Les spectres sont identifiés en comparant les spectres extraits à ceux des banques de spectres Raman, de travaux effectués antérieurement ou de spectres de référence réalisés en parallèle au "Laboratoire des Systèmes Chimiques Complexes", actuellement METICA en utilisant des produits purs.

En raison de leurs tailles microscopiques, les aérosols sont invisibles, mais on peut aisément voir leurs effets collectifs dans l'atmosphère quand leur concentration y est élevée. En revanche, on peut voir les aérosols un par un à l'aide d'un microscope électronique, où on remarque la variété de tailles, de formes, d'aspects et couleurs (Boucher, 2012), c'est le cas des échantillons photographiés à l'aide du dispositif de prise de photographies du spectrophotomètre Raman utilisé, indiquées dans les figures IV-1, IV-7 et IV-14.

IV-1. Analyse de l'échantillon E1

Ce premier échantillon de l'étude est une partie $9 \times 9 \mu\text{m}^2$ de surface (81 pixels), formée d'un amas de particules de poussière recueillies sur le système foliaire du cyprès à proximité de la cimenterie, en station (S2), zone visiblement impactée par les rejets atmosphériques. Les données Raman de l'échantillon brut correspondant aux spectres acquis et provenant des 81 pixels ayant une résolution finale de $2 \mu\text{m}$, obtenues avec l'excitatrice 532 nm, sont enregistrées sur l'image de microscopie optique de la figure IV-1.

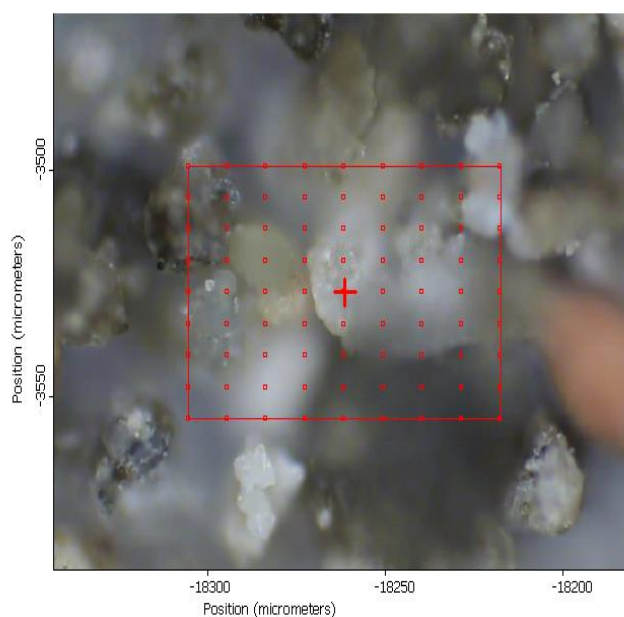


Figure IV-1: Image de microscopie optique de la zone analysée, grossissement x 20 de l'échantillon (E1), de poussières collectées dans la station S2

La figure IV-1 est une image optique des particules sélectionnées et impactées de l'échantillon de poussière (E1). Les points rouges du cadre central représentent les points d'impact du laser de la surface analysée, pour l'enregistrement, en mode cartographie, donc 81 spectres.

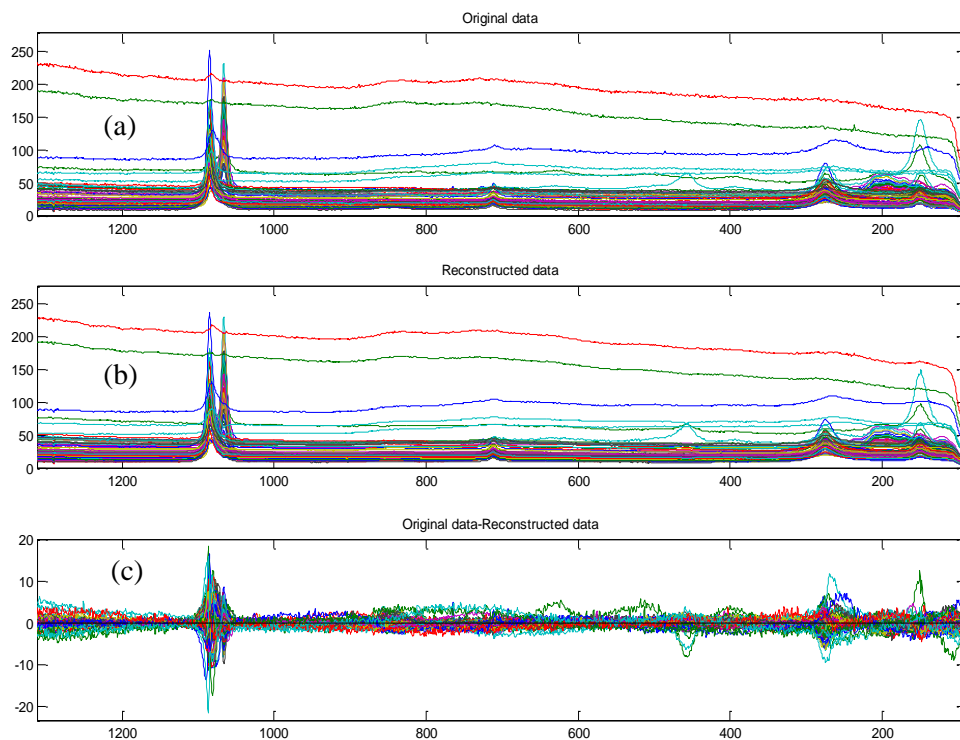


Figure IV-2 : Représentation des différents spectres (a) Spectres originaux de l'échantillon E1 ; (b) spectres reconstruits ; (c) Différence Spectres originaux – spectres reconstruits.

La figure IV-2 montre les spectres Raman originaux acquis, associés aux différents points d'impact du laser, ceux reconstruits par le logiciel Unscrambler, puis la différence des deux ensembles, représentant ainsi tous les éléments. Ces spectres sont représentatifs de mélanges, et la cartographie effectuée sur l'échantillon a permis d'obtenir 81 spectres. Le profil de concentration se trouve cependant sur la figure IV-3. Chaque couleur est la moyenne d'un ensemble de spectres représentant la contribution d'une catégorie d'espèces chimiques.

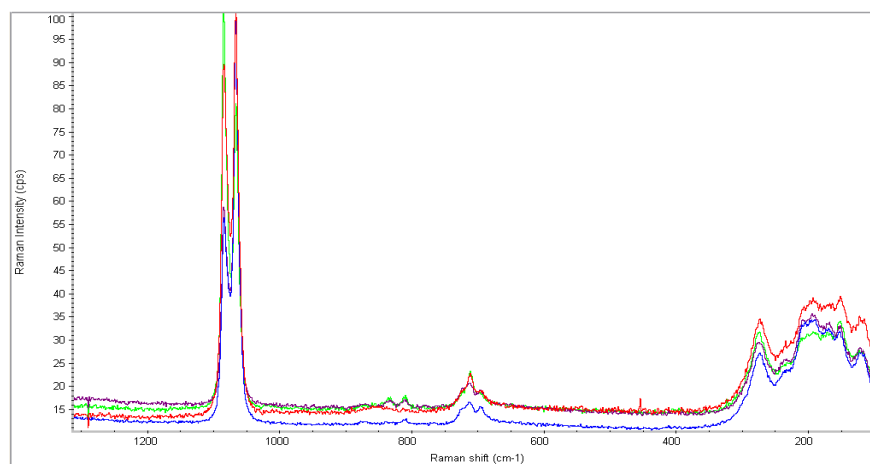


Figure IV-3 : Profil de concentrations de l'échantillon E1

La figure IV-4 est la cartographie moléculaire de la zone de l'échantillon E1, impactée par le laser. Elle représente la distribution spatiale de toutes les variables pures extraites. La contribution d'une variable pure sur 1 pixel se traduit en niveaux de couleurs. Par exemple, un pixel de couleur vert foncé correspond à une contribution maximale et inversement pour 1 pixel de couleur vert clair.

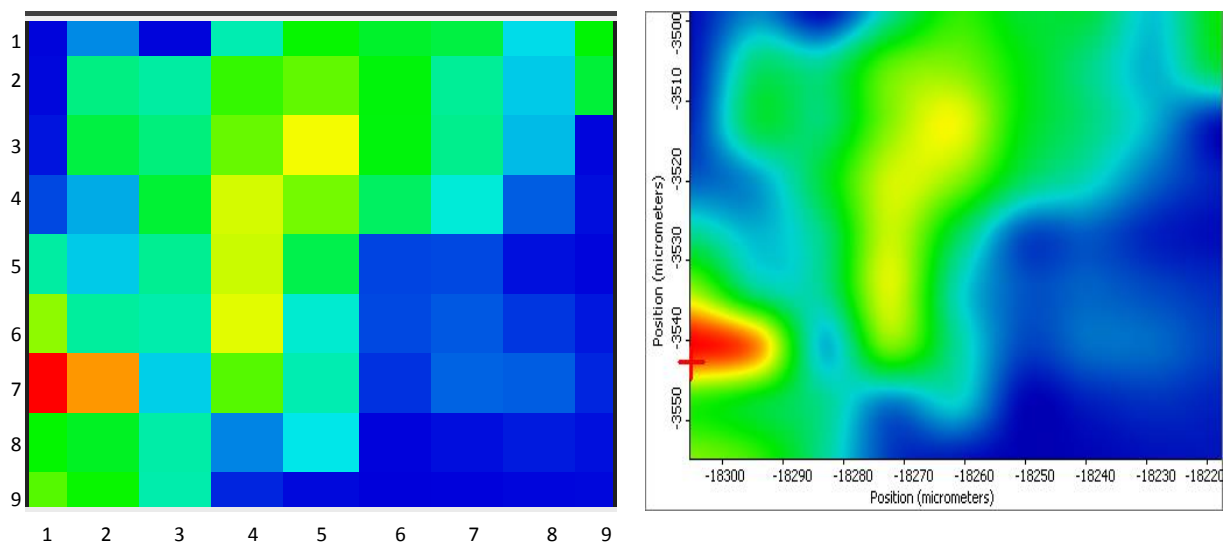


Figure IV-4 : Cartographie moléculaire d'une zone de 9 X 9 µm de l'échantillon E1.

La présence des composés est donnée par l'échelle de couleurs

Chaque image Raman de la figure IV-5 est reconstruite à partir des contributions des constituants représentés par les spectres de produits purs affichés au niveau de la figure IV-6 : (a), (b), (c) et (d). Les spectres Raman fournissent des empreintes moléculaires et des informations qui peuvent être utilisés pour identifier des constituants d'aérosols inconnus.

La cartographie Raman de l'échantillon E1 a permis d'obtenir la distribution des espèces présentes. La première composante extraite des spectres de mélange est représentative d'un fond de fluorescence présent de façon aléatoire. Ce fond de fluorescence est plus présent sur la partie haute de la poussière (Figure IV-5 (a), IV-6 (a)) ; et dominant une bande Raman caractéristique d'un carbonate représenté ici par un carbonate de calcium (CaCO_3) ou calcite, située à 1085 cm^{-1} .

Selon Falgayrac et al., (2006), la calcite (CaCO_3) représente également une grande part de la fraction minérale des aérosols troposphériques avec un diamètre inférieur à $10 \text{ }\mu\text{m}$. Ce

carbonate de calcium est la roche carbonatée la plus commune des carbonates minéraux, présente majoritairement sous la forme cristallographique dite calcite.

Le premier produit pur extrait par l'approche SIMPLISMA (deuxième composante) est un carbonate de potassium : K_2CO_3 (Figure IV-5 (b), IV-6 (b)). Ce composé est dispersé sur toute la surface de la cartographie comme le montre la figure IV-5 (b). La contribution relative de ce composé est représentée par les intensités de la couleur verte.

Pour l'échantillon E1, le constituant K_2CO_3 est un carbonate qui possède une raie Raman majoritaire située à 1066 cm^{-1} et des raies minoritaires à $724, 695, 192, 120\text{ cm}^{-1}$. Un bon accord est obtenu entre les raies de ce spectre et celles du spectre de référence effectué par Koura et al., (1996). Nous avons obtenus un bon ajustement avec deux contributions à 1061 et 724 cm^{-1} en accord avec le spectre Raman de K_2CO_3 réalisé au laboratoire (Figure IV-22).

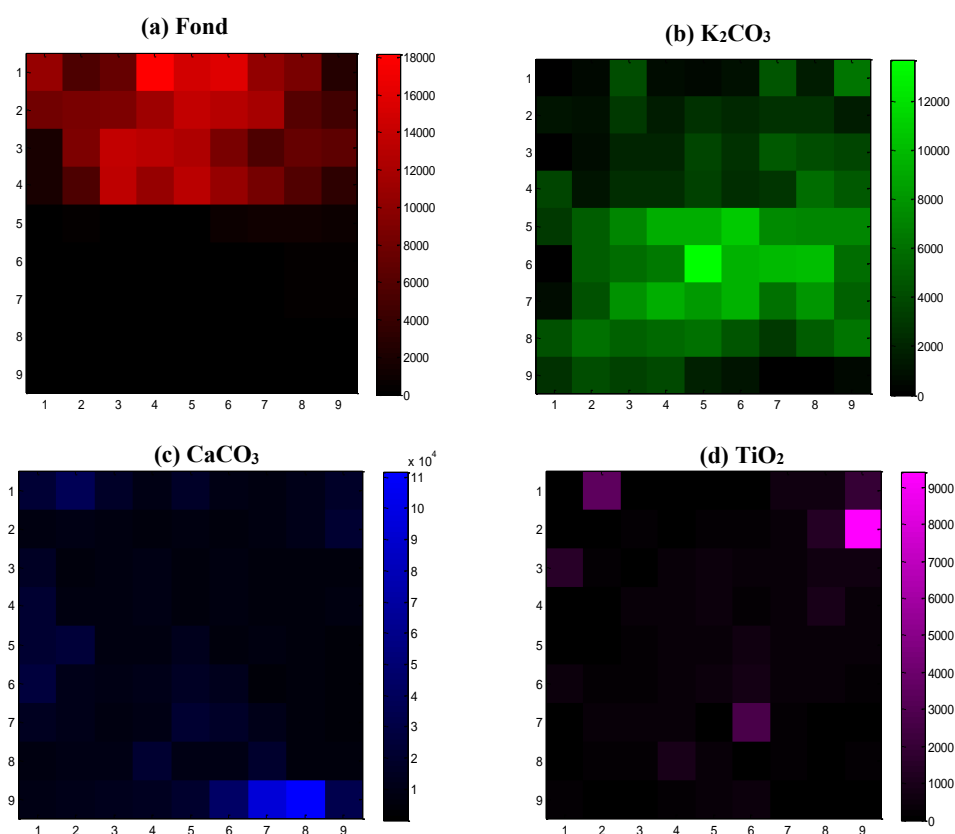


Figure IV-5 : Cartes de concentration correspondant aux quatre constituants purs extraits.

Les concentrations des composants sont proportionnelles à l'intensité des couleurs. La troisième composante a pu être identifiée comme étant du carbonate de calcium ($CaCO_3$) (Figure V-5 (c), V-6 (c)), qui s'avère être un constituant du ciment (Hughes et al., 1998). La

bande Raman de plus grande intensité se situant à 1084 cm^{-1} est caractéristique d'un groupement carbonate. Cette bande apparaît typique de la structure de CaCO_3 , selon les résultats obtenus par de nombreux auteurs dont (Martinez-Ramirez et al., 2003 ; Falgayrac, 2006 ; Sharma et al., 2009), les autres bandes caractéristiques de CaCO_3 se situent sur le spectre à $150, 270, 712\text{ cm}^{-1}$ (Figure IV-6 (c)) et sont en accord avec celles rapportées dans les travaux de Martinez-Ramirez et al., (2003).

La quatrième composante extraite est attribuée au dioxyde de titane (TiO_2), avec des raies Raman caractéristiques à 151 cm^{-1} (raie majoritaire) et des raies minoritaires situées à $392, 502, 623, 828\text{ cm}^{-1}$ (Figure IV-6 (d)). TiO_2 n'est présent que sur quelques points puisque sur la figure IV-5d, l'image n'est active que sur quelques pixels (Figure IV-5 (d)). TiO_2 constitue un composant du ciment à une concentration pouvant aller de 0,4 (Peschard et al., 2006) à 2,25% (Klimesch et al., 1998).

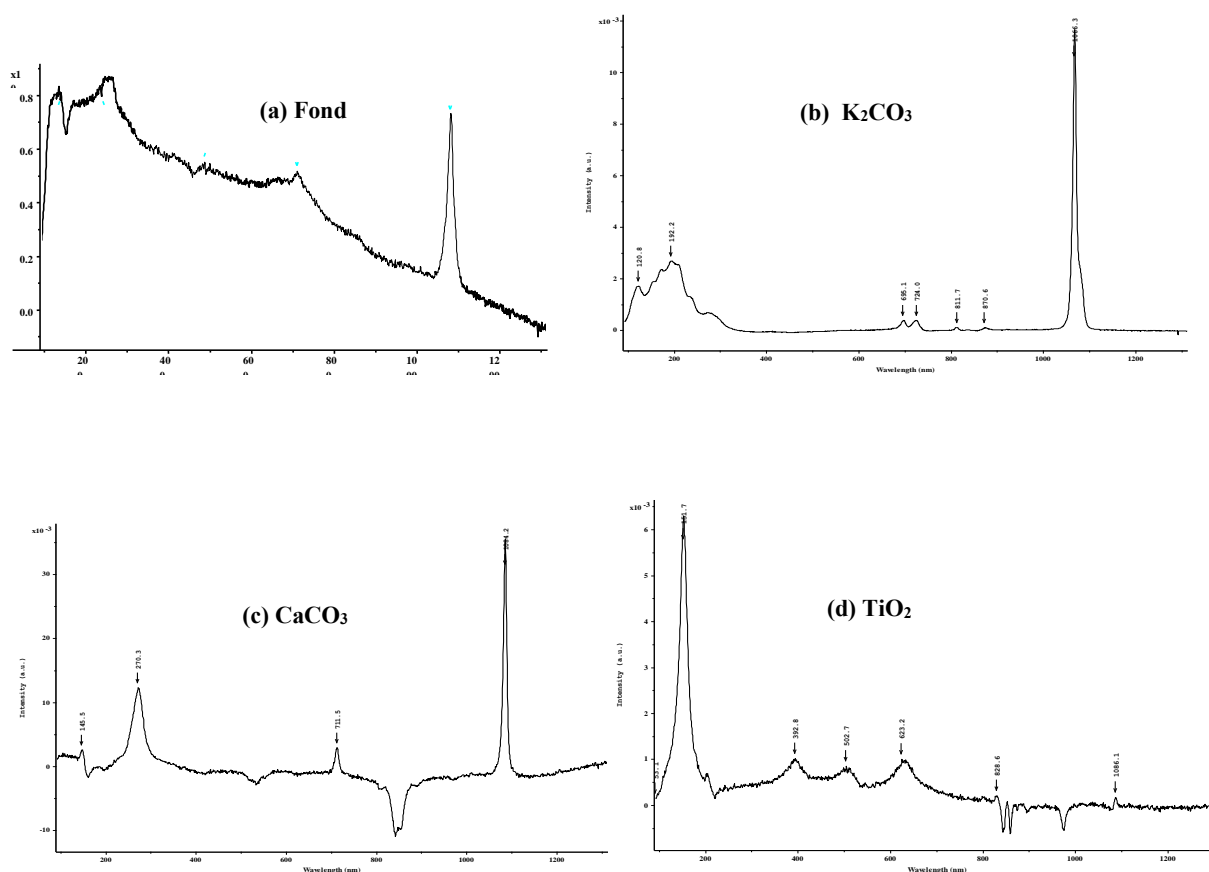


Figure IV-6 : Résultats SIMPLISMA pour les 4 constituants extraits de l'échantillon 1

Parker et Siegel montraient en 1990 déjà, que les pics situés à 610 et 220 cm^{-1} sont attribués à la phase rutile de TiO_2 et que les pics à 154 et 424 cm^{-1} sont attribués, respectivement, aux

phases anatase et rutile de TiO_2 . Swamy et al., (2005), rapportent dans un travail publié dans la revue "Physical Review" que les raies Raman assignées à l'oxyde de titane sont situées à 144, 399, 519, 639 cm^{-1} (Figure IV-6 (d)).

Le dioxyde de titane (TiO_2) se présente sous différentes formes cristallines, on en dénombre l'anatase, le rutile et la brookite. Les plus courantes sont l'anatase, et le rutile ; la brookite s'avère être très rare dans la nature.

La région de plus grand nombre d'onde dont le maximum d'intensité se situe près de 838 cm^{-1} est caractéristique des phases C_3S , C_2S et du ciment Portland (Tarida et al., 2002) ; c'est le cas des spectres des échantillons (E1R2 (a) et (b), E2R1 (a) et E1R3 (f)).

La catégorie prédominante dans les poussières analysées par spectroscopie Raman étant celle des carbonates, présente dans la plupart des échantillons. Les sulfates et silicates représentent des catégories dans un ordre d'importance inférieur à celui des carbonates.

(Pour rappel, le tableau où est indiquée la nomenclature usuelle des phases du ciment)

Tableau IV-1 : Tableau récapitulatif des principales phases du ciment

| Phases chimique | Phase minérale / Abréviation | Composition élémentaire | Fraction (%) du ciment |
|-------------------|--|--|------------------------|
| Alite | silicate tricalcium : C_3S | $(\text{CaO})_3(\text{SiO}_2)$ | 50 à 75 |
| Belite | silicate dicalcium : C_2S | $(\text{CaO})_2(\text{SiO}_2)$ | 10 à 20 |
| Alluminate | aluminate tricalcium : C_3A | $(\text{CaO})_3(\text{Al}_2\text{O}_3)$ | 5 à 10 |
| Ferrite | aluminoférate tetracalcium : C_4AF | $(\text{CaO})_4(\text{Al}_2\text{O}_3)(\text{Fe}_2\text{O}_3)$ | < 10 |

C : CaO ; S : SiO_2 ; A : Al_2O_3 ; F : Fe_2O_3 .

Un ciment Portland est un mélange initialement complexe, constitué de plusieurs phases dont : l'alite (C_3S) pour 50 à 75 %, la belite (C_2S) de 10 à 20 %, de l'aluminate (C_3A) de 5 à 10 % et de la ferrite (C_4AF) pour moins de 10 % (Tarrida et al., 2002), et cette complexité est accentuée par l'interférence des différents composés dans les résultats (obtention de nombreux pics de plusieurs phases dans le même spectre).

IV.2. Echantillon 1 répétition 2 (E1R2)

Le deuxième échantillon est constitué d'un amas de particules de poussières déposées sur le système foliaire des conifères sélectionnés dans ce travail, au niveau de la station S2.

L'image optique de la figure IV-7 représente la distribution spatiale des agrégats de particules de poussières de l'échantillon **E1R2**. La région sélectionnée représente l'aire cartographiée (13x13 pixels) et les points rouges sont les points d'impact du laser avec l'excitatrice 532 nm, pour l'enregistrement des spectres. Cette cartographie effectuée sur l'échantillon a permis d'obtenir 169 spectres Raman (Figure IV-7).

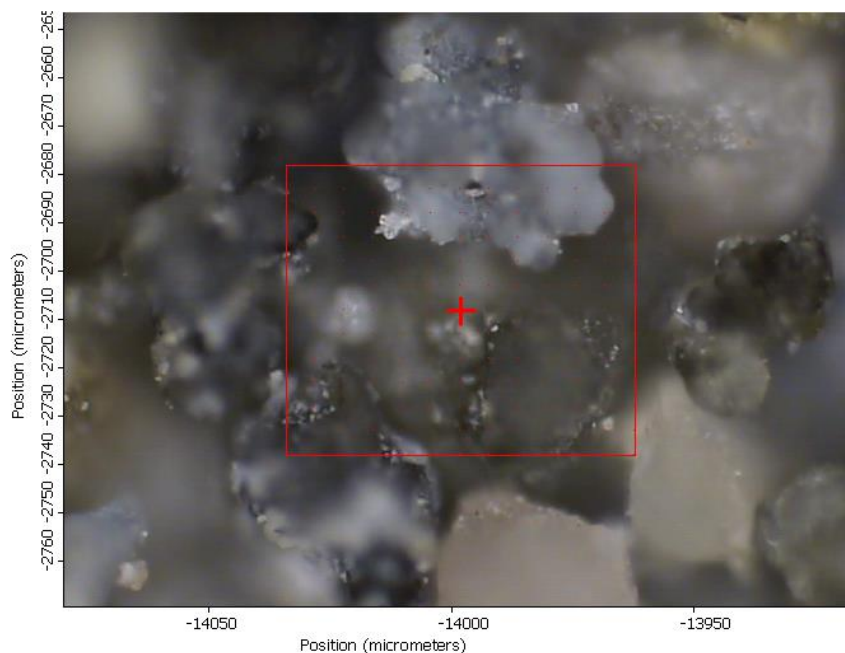


Figure IV-7: Image microscopie optique de la zone analysée grossissement X 20 de l'échantillon E1R2 de poussières collectées au niveau de la station 2

La cartographie moléculaire obtenue sur la zone impactée montre la présence de multiples composés et les contributions sont données par l'échelle des couleurs (Figure IV-8). L'examen préliminaire suggère la présence de carbonates, des particules riches en calcium, et des oxydes de fer, d'aluminium ou de potassium. La cartographie obtenue sur la zone de dimension (13 x 13 μm) montre la présence de CaCO_3 comme produit majoritaire dans les agrégats rugueux de particules avec des spectres caractéristiques de structures semblables.

L'échantillon présenté sur la figure IV-9 donne des spectres différents du fait de la répartition hétérogène des particules ; de la différence de concentration des composés et de l'effet d'échantillonnage (tassement des particules). Tous ces problèmes rendent difficiles l'extraction des informations contenues dans les données.

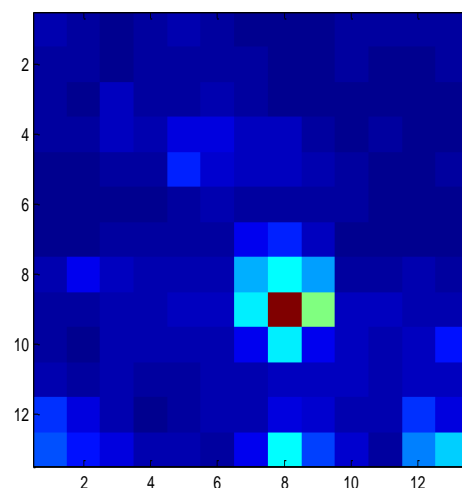


Figure V-8 : Cartographie moléculaire d'une zone de 13 x 13 μm de l'échantillon E1R2.

L'ensemble des spectres de l'échantillon E1R2 est donné dans la figure IV-9, afin de fournir une signification globale de la méthodologie d'acquisition. Le logiciel OMNIC a été utilisé pour l'acquisition spectrale, et le logiciel Unscrambler pour le traitement et la reconstruction pour obtenir le spectre moyen et celui du mélange reconstruit (Figure IV-10).

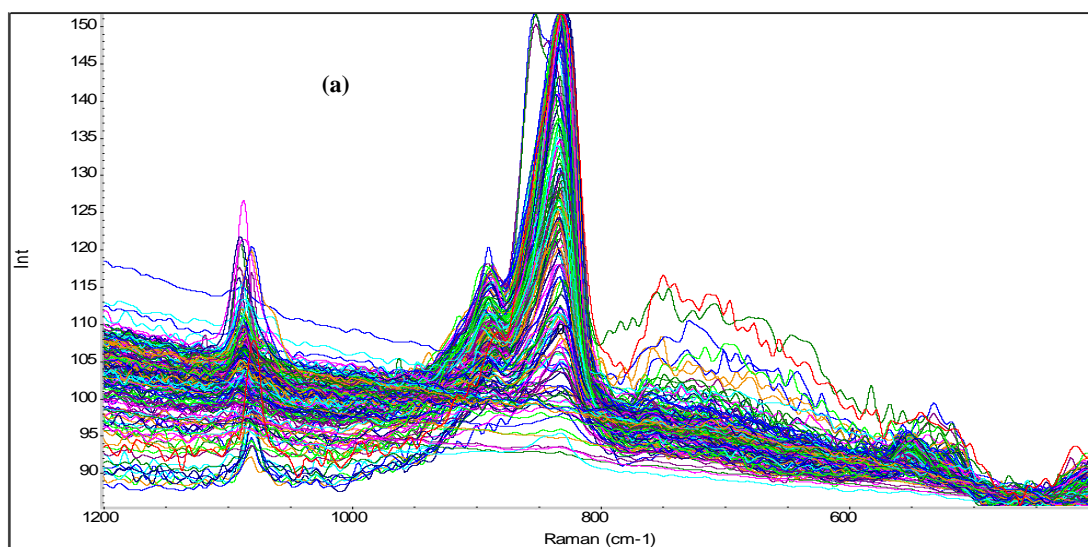


Figure IV-9 : Spectres Raman originaux de l'ensemble de l'échantillon E1R2 réalisés en mode cartographie

L'allure générale de l'ensemble des réponses Raman de l'échantillon montre que l'ensemble des raies actives se situe dans la région 900–800 cm^{-1} pour les plus intenses et dans la région 1150–1050 cm^{-1} pour les pics les moins intenses. Le reste du spectre moyen ne fournit que très peu d'informations sur la constitution (Figure IV-9 et Figure IV-10 (a) (b)).

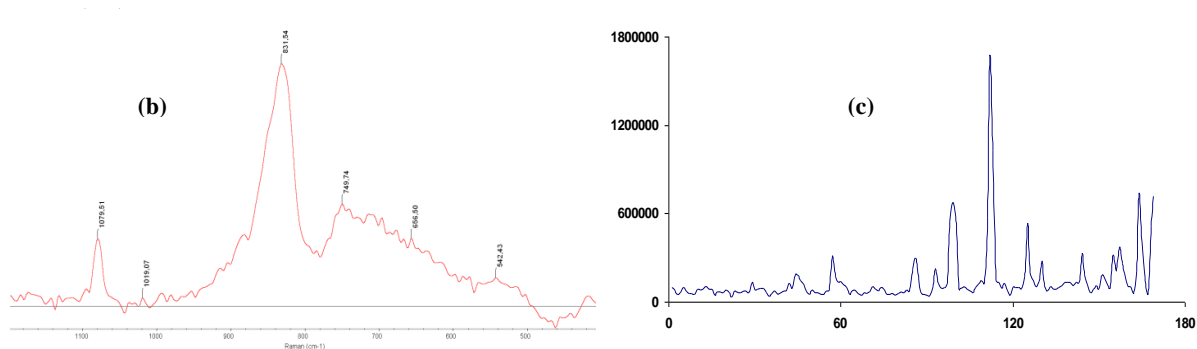


Figure IV-10: (a) Spectre Raman moyen de l'échantillon
 (b) Spectre Raman (moyen) de mélange reconstruit

Le spectre de mélange fournit des caractéristiques distinctes en raison de chaque composant : les hydroxydes de Ca et Mg ont des fréquences d'élongation de la bande O–H distinctes ; le carbonate de calcium possède des bandes fondamentales caractéristiques et des harmoniques bien séparées des bandes de surfaces (Hughes et al., 1995). Sur le spectre moyen se situent les principales raies actives de l'ensemble des spectres (Figure IV-10).

La dérivée seconde des spectres est utilisée pour que les caractéristiques spectrales des spectres transformés soient identifiables. Donc, quand les spectres sont deux fois dérivés, le signe des spectres obtenus est changé pour avoir ainsi des pics positifs au même nombre d'onde (ou à la même longueur d'onde) où étaient les spectres d'origine (Batonneau et al., 2001). La dérivée seconde permet de réduire la dérive de la ligne de base, de séparer plus clairement les bandes d'absorption et d'exalter l'information spectrale.

Pour les données spectrales avec des composantes pures se chevauchant fortement ou des lignes de base significatives, l'approche de la variable pure a ses limites ; cependant, dans ce cas, des spectres de dérivation seconde peuvent être utilisés. Dans certaines spectroscopies, de très larges pics de composants d'intérêt se chevauchent avec des pics étroits d'intérêt (Windig et al., 2002).

Les espèces identifiées dans cet échantillon sont affichées par les spectres de produits purs ou mélanges enregistrés sur la figure IV-12 (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g) et (h).

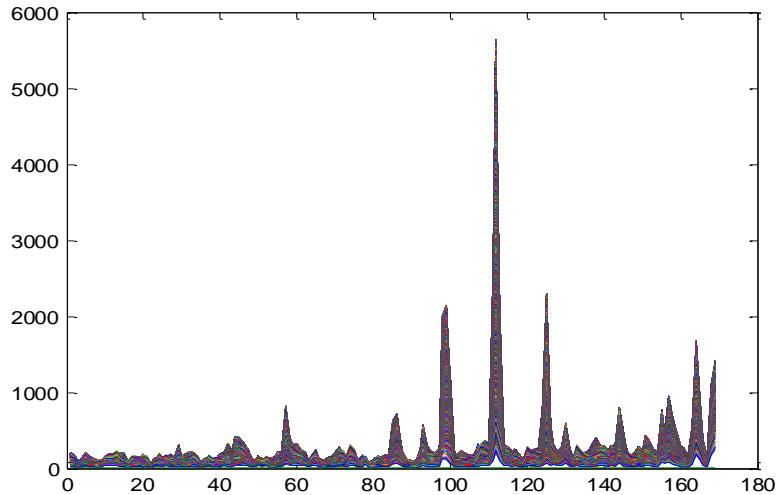


Figure V-11: Spectres Raman de mélange obtenus en dérivée seconde

Sur la figure IV-12 (a), on observe que le premier spectre extrait est représentatif d'un fond de fluorescence présent de façon aléatoire sur le spectre, dominant une raie Raman étroite de forte intensité, située à 828 cm^{-1} pouvant être assignée à la phase SiO_4 , indiquant l'alite ($\text{C}_3\text{S} : (\text{CaO})_3(\text{SiO}_2)$) (Garg et Wang, 2012), avec un décalage de 2 cm^{-1} . L'alite est un composé majeur du ciment à un taux pouvant varier entre 50 et 75 %. Une autre raie de faible intensité est observée à 1085 cm^{-1} , typique de la raie principale et majeure du carbonate de calcium (CaCO_3) (Figure IV-12 (a)).

La première composante extraite des spectres de mélange n'est pas représentative d'un produit pur mais peut être assignée à un mélange des phases bélite ($\text{C}_2\text{S} : (\text{CaO})_2\text{SiO}_2$) et alite (C_3S). Les raies Raman de plus grande intensité sont observées à $539, 832$ et 884 cm^{-1} (Figure V-12 (b)).

La région de plus grand nombre d'ondes dont le maximum en intensité se situe un peu près de 838 cm^{-1} est caractéristique des phases (C_2S) et (C_3S) du ciment (Tarrida et al., 2002). De même, pour Garg et Wang, (2012), la région $800\text{--}850\text{ cm}^{-1}$ comporte la plupart des bandes relatives aussi bien à l'alite qu'à la bélite, ce qui semble être des chevauchements significatifs.

La contamination par des ions métalliques peut-être une explication valable pour la fluorescence obtenue pour les phases C_3S et C_2S du ciment non pur, mais elle n'explique pas immédiatement le comportement similaire exposé par les échantillons synthétisés (Dyer et al., 1995).

La deuxième composante extraite peut être représentative d'une mixture. La raie Raman de plus grande intensité observée à 142 cm^{-1} , avec un décalage de 2 cm^{-1} , et les autres à 213 , 246 et 635 cm^{-1} peuvent être attribuées à la phase TiO_2 (NAIST, 1989) et (Swamy et al., 2005). Tandis que la raie Raman majoritaire située à 842 cm^{-1} est typique de C_3S . Ce spectre renferme également une raie de grande intensité située à 1085 cm^{-1} et une autre à 1576 cm^{-1} . D'après la littérature, ces deux pics sont probablement dus à la présence d'un carbonate de fer, identifié comme étant de la sidérite ou FeCO_3 (Sharma et al., 2009) (Figure IV-12 (c)).

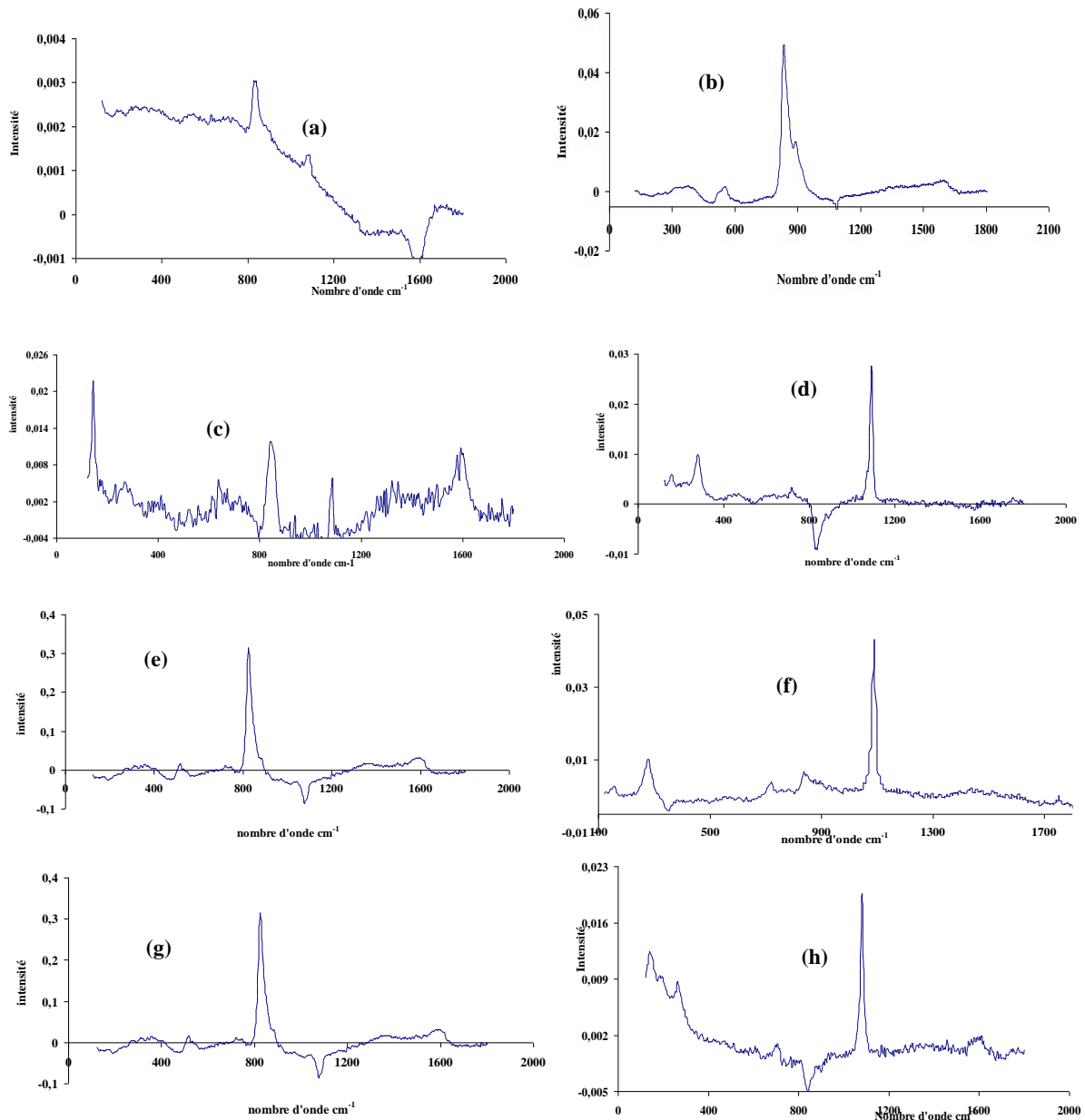


Figure IV-12 : Résultats SIMPLISMA pour 7 constituants extraits de l'échantillon E1R2.

Le spectre représenté sur la figure IV-12 (d), dont toutes les raies Raman observées à 151, 277, 713, 1088 cm^{-1} , sont typiques d'un oxyde de fer ou hématite (Fe_2O_3), comme produit majoritaire. Le spectre paraît en bon accord avec celui proposé par Sharma et al., (2007), avec un décalage de 2 cm^{-1} (Figure IV-12 (d)). C'est la troisième composante du mélange.

La quatrième composante extraite par SIMPLISMA, représentée sur la figure IV-12 (e) est identifiée comme étant un mélange de (C_2S) et (C_3S). La raie Raman principale assignée à cette composante est située à 822 cm^{-1} .

Le composé extrait de l'échantillon E1R2 et obtenu sur la figure IV-12 (f) où le spectre Raman paraît présenter une association de deux composés majoritaires du ciment. Nous avons obtenu un bon ajustement avec deux contributions à 277, 715, 1090 cm^{-1} pour un carbonate de calcium et à 835 cm^{-1} pouvant appartenir à la phase bélite. Ce qui représente la cinquième composante.

Sur la figure IV-12 (g) est enregistré le spectre Raman pouvant être attribuée à de l'alite (C_2S), formant la sixième composante (Tarrida et al., 1995). Le pic Raman le plus intense est situé à 855 cm^{-1} , avec un décalage de 5 cm^{-1} .

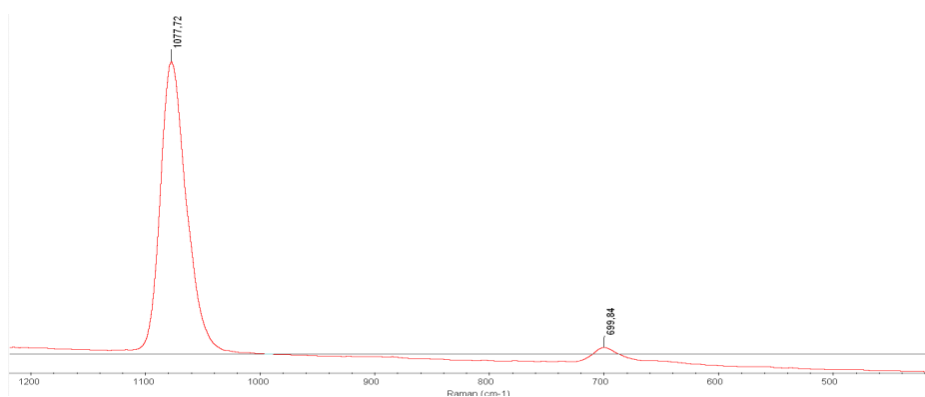


Figure IV-13 : Spectre Raman de Na_2CO_3 pur réalisé au laboratoire

Les raies Raman de la septième composante sont affichées sur le spectre Raman de la figure IV-12 (h) et sont en accord avec celles du spectre de la figure IV-13, réalisée au laboratoire et correspondant au carbonate de potassium pur de formule Na_2CO_3 , en suivant la même procédure d'acquisition et d'enregistrement que pour les échantillons de poussières, pour comparaison. Celle-ci étant fructueuse, les pics Raman caractéristiques de l'échantillon sont alors localisés à 1080 cm^{-1} pour le plus intense et 697 cm^{-1} pour celui de moindre intensité,

ceux de référence présentent un décalage de 1 cm^{-1} pour la première (1079 cm^{-1}) et 2 cm^{-1} pour la seconde (699 cm^{-1}) (Figure IV-13).

V-3. Echantillon E1R3

L'échantillon E1R3 correspond à l'amas d'aérosols collectés sur le système foliaire de *Cupressus sempervirens*, au niveau de la station S3, dans la localité de Hamma Bouziane. Pour cet échantillon, une zone de $17 \times 16 \mu\text{m}^2$ a été sélectionnée puis analysée. Dans la figure V-14, on distingue l'image optique de l'agrégat rugueux des diverses espèces minéralogiques présentes dans l'amas de poussières généré par l'assemblage de particules pouvant provenir de la cimenterie et/ou d'autres sources de pollution. Le cadre au centre de l'image représente l'aire analysée, avec les 272 pixels spectres de particules impactées par le laser.

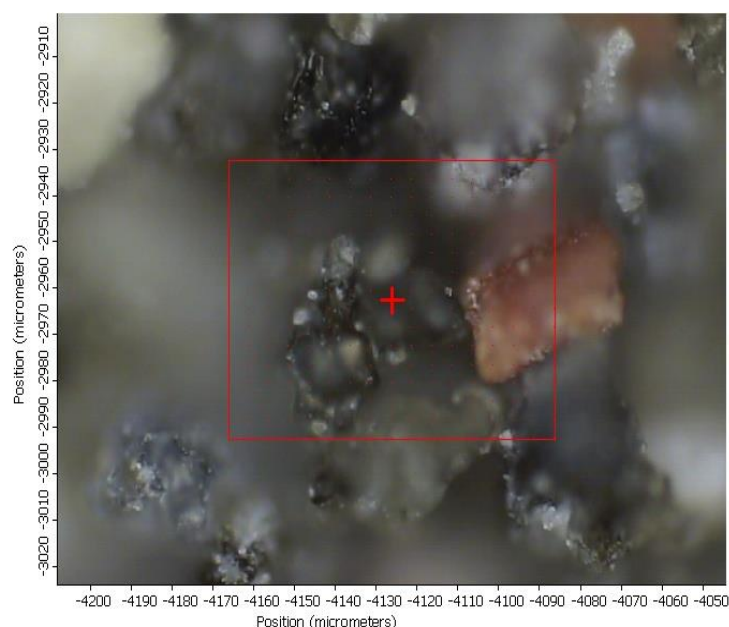


Figure IV-14 : Image microscopie optique de la zone analysée au grossissement X 20 de l'échantillon (E1R3) de poussières collectées au niveau de la station S3.

Chaque spectre Raman est caractéristique d'une microzone de particules correspondant à une surface de $2 \mu\text{m}^2$ de l'échantillon (Figure IV-15). La distribution spatiale de toutes les variables pures extraites est donnée par la répartition des niveaux de couleurs de la figure correspondant à la cartographie moléculaire, sur laquelle on peut voir les dérivées de toutes les couleurs ayant contribué au mélange avec différentes concentrations.

Les niveaux de bleu foncé dispersés sur l'ensemble de l'image ne sont que le fond de fluorescence présent aléatoirement sur toute la surface. Ce fond de fluorescence représente un

bruit de fond qui peut être dû au matériau de verre utilisé pour l'acquisition dans l'appareil. Tandis que chacune des cartes de concentration de la figure IV-19 correspond à la distribution d'une seule variable extraite ; elle est donc constituée des niveaux d'une même couleur.

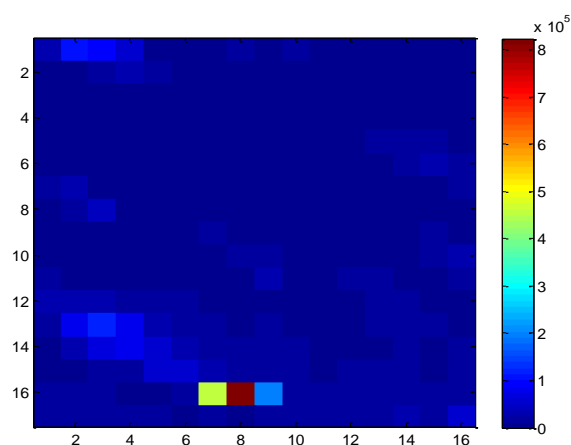


Figure IV-15 : Cartographie moléculaire d'une zone de $17 \times 16 \mu\text{m}^2$ de l'échantillon E1R3 collecté au niveau de la station S2.

Les deux ensembles de spectres Raman des particules impactées, sélectionnés sont enregistrés et présentés sur les deux graphes de la figure IV-16 (a) et (b), car le nombre élevé de spectres ne peut pas être enregistré sur un seul et même graphe, ceux-ci sont associés à tous les points impactés. L'acquisition par balayage Raman point par point (pas de $2 \mu\text{m}$) dans des conditions non destructives, en utilisant une faible puissance laser sur l'échantillon, a généré un ensemble de 272 pixels spectres.

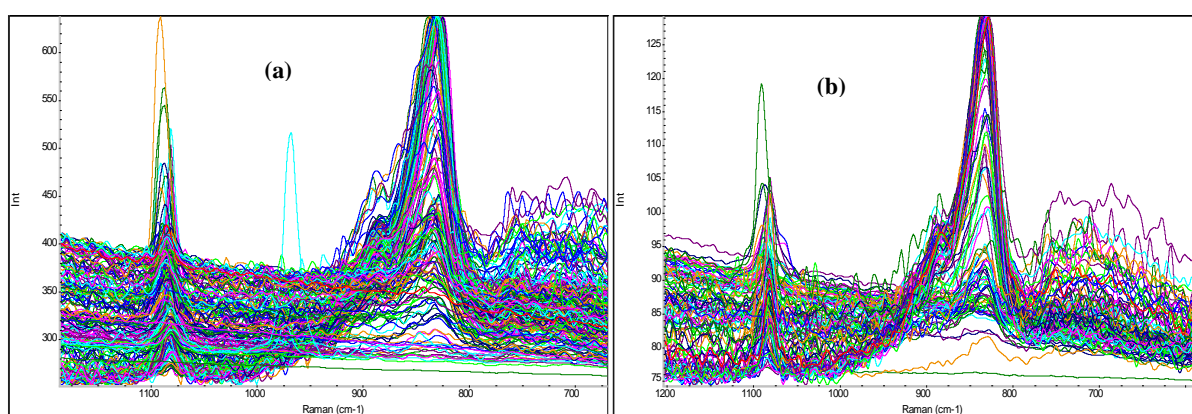


Figure IV-16 : (a) ; (b) Spectres Raman originaux de l'ensemble de l'échantillon E1R3, réalisés en mode cartographie (272 spectres)

La comparaison des spectres Raman obtenus par la méthode de traitement SIMPLISMA avec les spectres de référence réalisés au laboratoire, tels que Na_2CO_3 de la figure IV-20 (d) en

accord avec la Figure IV-13 ; ainsi que CaO de la figure IV-20 (g) en accord avec la Figure IV-21, ou encore en ajustement avec les spectres de la banque établie NAIIST comme celui du MnCO_3 , en accord avec la figure IV-20 (d) indiquent que les pixels spectres sont caractéristiques de mélanges de plusieurs espèces chimiques pouvant présenter des chevauchements. Pour cela, il a été obtenu, comme première composante un spectre de fluorescence et six spectres Raman résolus par SIMPLISMA, pouvant être purs ou représentatifs de mélanges.

La région $1200\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ présente le maximum d'informations pour l'échantillon, et les raies Raman de plus grande intensité se situent au voisinage de 1085 et 850 cm^{-1} (Figure IV-16 (a) (b)). Les raies Raman les plus intenses dans l'échantillon E1R3 sont actives au voisinage des nombres d'ondes indiqués sur le spectre moyen ($1085, 1038, 842, 764, 714\text{ cm}^{-1}$) (Figure IV-17 (a)) et paraissent indiquer une présence majoritaire de carbonates.

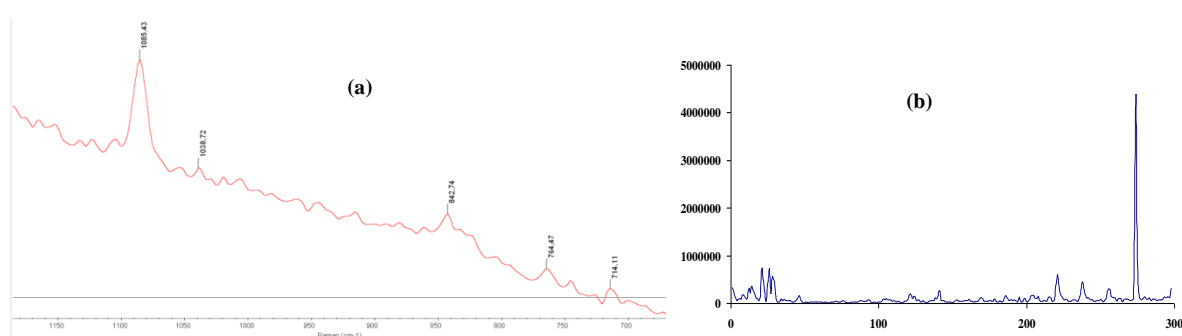


Figure IV-17 : (a) Spectre Raman moyen (b) Spectre Raman moyen reconstruit de E1R3

L'allure générale du spectre moyen (Figure IV-17 (a)) présente un fond de fluorescence qui domine les raies Raman actives de l'ensemble des spectres acquis, par contre, on observe que le spectre moyen reconstruit est complètement dépourvue du bruit de fond avec une séparation claire des pics actifs (Figure IV-17 (b)). La dérivée seconde a permis de réduire la dérive de la ligne de base pour afficher toute l'information spectrale (Figure IV-18).

Les cartes de concentrations correspondant aux espèces identifiées sont représentées sur la figure IV-19 (b) à (g). Et la présence des composés est donnée par l'échelle de chacune des couleurs. L'enregistrement des cartographies élémentaires et moléculaires de cette zone bien définie, correspondant à un ensemble de particules a été effectué. Chaque image Raman est

reconstruite à partir des contributions de chacun des constituants figurés (Figure IV-19) par les spectres des produits purs se trouvant dans l'amas.

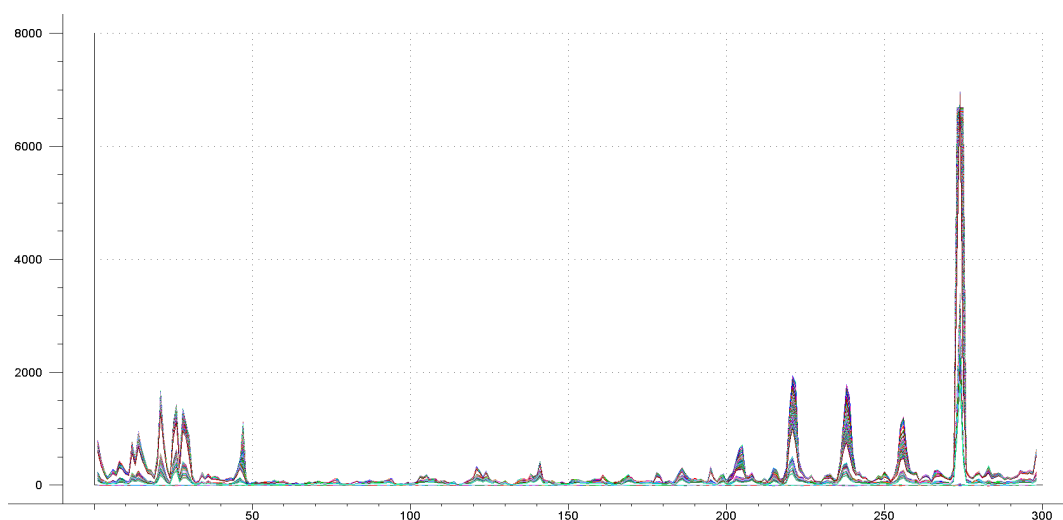


Figure IV-18 : Spectres obtenus en dérivée seconde de l'échantillon E1R3

La figure IV-19 (b) qui représente plusieurs niveaux de vert est attribuable à un dioxyde de titane (TiO_2), qui possède une distribution plus ou moins homogène sur l'ensemble de la surface de l'échantillon (on peut voir alors du vert un peu partout sur la surface). Alors que la figure IV-19 (c) dont la couleur mauve est présente sur quelques pixels dans la partie gauche de la cartographie de concentration, pouvant correspondre à un oxyde de silicium.

La carte de concentration de la figure IV-19 (d) n'est active que sur quelques pixels, sur le bas de la partie gauche de l'image, en affichant deux niveaux de bleu turquoise, probablement dus à la réponse Raman du carbonate de sodium Na_2CO_3 dans un mélange avec le carbonate de manganèse MnCO_3 . Tandis que la carte de concentration indiquée sur la figure IV-19 (e) est distribuée selon une dispersion de niveaux de jaune présent particulièrement et avec une importante concentration dans la partie basse de l'image. Cette dispersion peut être due à un ensemble de composés.

La carte de concentration indiquée sur la figure IV-19 (f), représentée en niveaux de gris sur toute la surface a permis d'obtenir la distribution d'oxydes de silicium. Tandis que celle affichée sur la figure IV-19 (g), et représentée en niveaux de rouge sur toute la surface a permis l'obtention d'une dispersion de plusieurs espèces chimiques minérales qui peuvent être assignées à un mélange de carbonates.

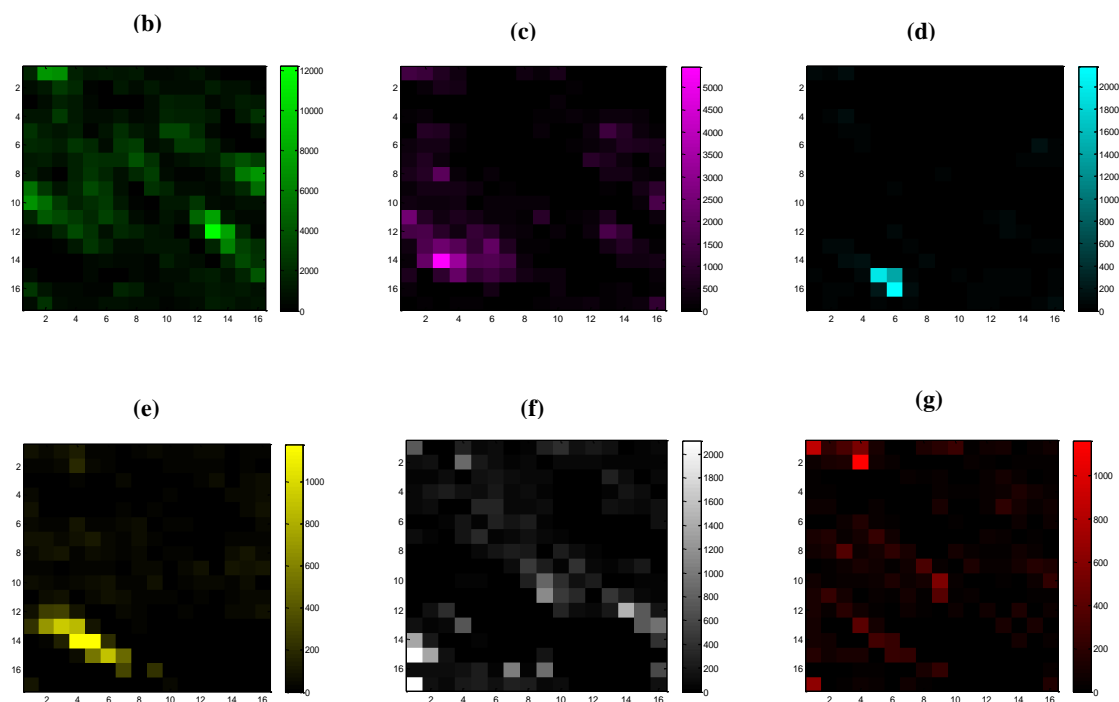


Figure IV-19 : Cartes de concentration des différents constituants purs.
 Les concentrations des composants sont proportionnelles à l'intensité des couleurs.

Les détails de la caractérisation chimique de la cartographie des particules dans l'agrégat de l'échantillon E1R3 sont montrés dans les spectres Raman de la figure IV-19 (a, b, c, d, e, f). Les spectres Raman IV-20 (d) et (g) sont relatifs à des carbonates, avec des bandes Raman caractéristiques se situant à 142, 264, 343, 705 cm^{-1} pour le spectre (d) représentatif de Na_2CO_3 et 152, 275 et 715 cm^{-1} pour la calcite (CaCO_3) et CaO pour le spectre (g). Les pics les plus intenses se situent à 1080 cm^{-1} pour Na_2CO_3 et 1090 cm^{-1} pour CaCO_3 . Ces mêmes bandes corroborent avec celles trouvées par Sharma et al., (2009), avec un léger décalage des bandes de 1 cm^{-1} pour le premier spectre et 3 cm^{-1} pour le deuxième.

Les spectres Raman de l'échantillon E1R3, représentés par la figure IV-20 (a) à (g), possèdent différents groupes de bandes, correspondant à plusieurs produits purs extraits de cet échantillon de poussières collectées en station S3. La région de plus grand nombre d'onde dont le maximum en intensité se situe près de 1080 cm^{-1} est caractéristique de carbonates.

Le premier produit extrait par SIMPLSMA (deuxième composante) est affecté à TiO_2 , les raies Raman majeures caractéristiques sont situées à 148 et 640 cm^{-1} , avec un décalage de 1 cm^{-1} par rapport aux travaux de Swamy et al., (2005) ; associé à un mélange des deux phases

C₂S et C₃S du ciment, avec une bande Raman intense à 823 cm⁻¹ avec un décalage de 3 cm⁻¹, en accord avec les résultats de Garg et Wang (2012) (Figure IV-20 (b)).

Le spectre Raman de la figure IV-20 (c) possède une raie Raman de grande intensité située à 830 cm⁻¹ et des raies de faible intensité à 370 et 230 cm⁻¹ qui peuvent être assignées à SiO₄, selon Sharma et al., (2009) et Garg et Wang (2012) ; avec un épaulement à 878 cm⁻¹ attribué probablement à un carbonate additionnel. C'est la troisième composante du mélange.

Le spectre Raman de la figure IV-20 (d) est typique d'un carbonate de sodium. Le Na₂CO₃, constituant la quatrième composante, est identifié avec ses deux pics intenses situés à 1080 et 704 cm⁻¹, il concorde avec celui dont l'acquisition est réalisée au laboratoire en utilisant le produit pur et en mode cartographie, avec un décalage de 3 cm⁻¹ pour la raie principale et 5 cm⁻¹ pour la seconde. Les paramètres du microscope étant les mêmes adoptés au cours de l'acquisition des spectres relatifs aux échantillons de poussières. La région du spectre située entre 350 et 150 cm⁻¹ fournit 3 raies pouvant être affectées à un autre carbonate : le carbonate de manganèse (MnCO₃), dont la référence NAIST est 14430.

Le carbonate de sodium peut être responsable du déclin des teneurs en chlorophylle, car selon Desai (2012), les pigments de chlorophylle sont considérablement réduits avec la progression de la concentration de Na₂CO₃, un degré sensiblement plus élevé de réduction de la teneur en chlorophylle sous Na₂CO₃ est observé dans ses travaux.

Sur la figure IV-20 (e), on observe un spectre constitué d'une mixture de plusieurs composés, formant la cinquième composante. La raie Raman de plus grande intensité située à 970 cm⁻¹ et les raies à 1080, 615, 445, 341, 131 cm⁻¹ semblent typiques d'un sulfate selon les travaux de nombreux auteurs. Nous avons obtenu un bon ajustement avec deux contributions en accord avec les travaux de Falgayrac (2006) assignant les raies 970 et 445 cm⁻¹ à un sulfate de plomb (PbSO₄). Batonneau et al., (2001) affectent cette raie Raman avec un décalage de 6 cm⁻¹ à la galène (PbS), phase ayant été identifiée par DRX dans la poussière. Frost et Keeffe (2008) attribuent les raies 970 et 620 cm⁻¹ à un sulfite de potassium dihydraté (K₂SO₃·2H₂O).

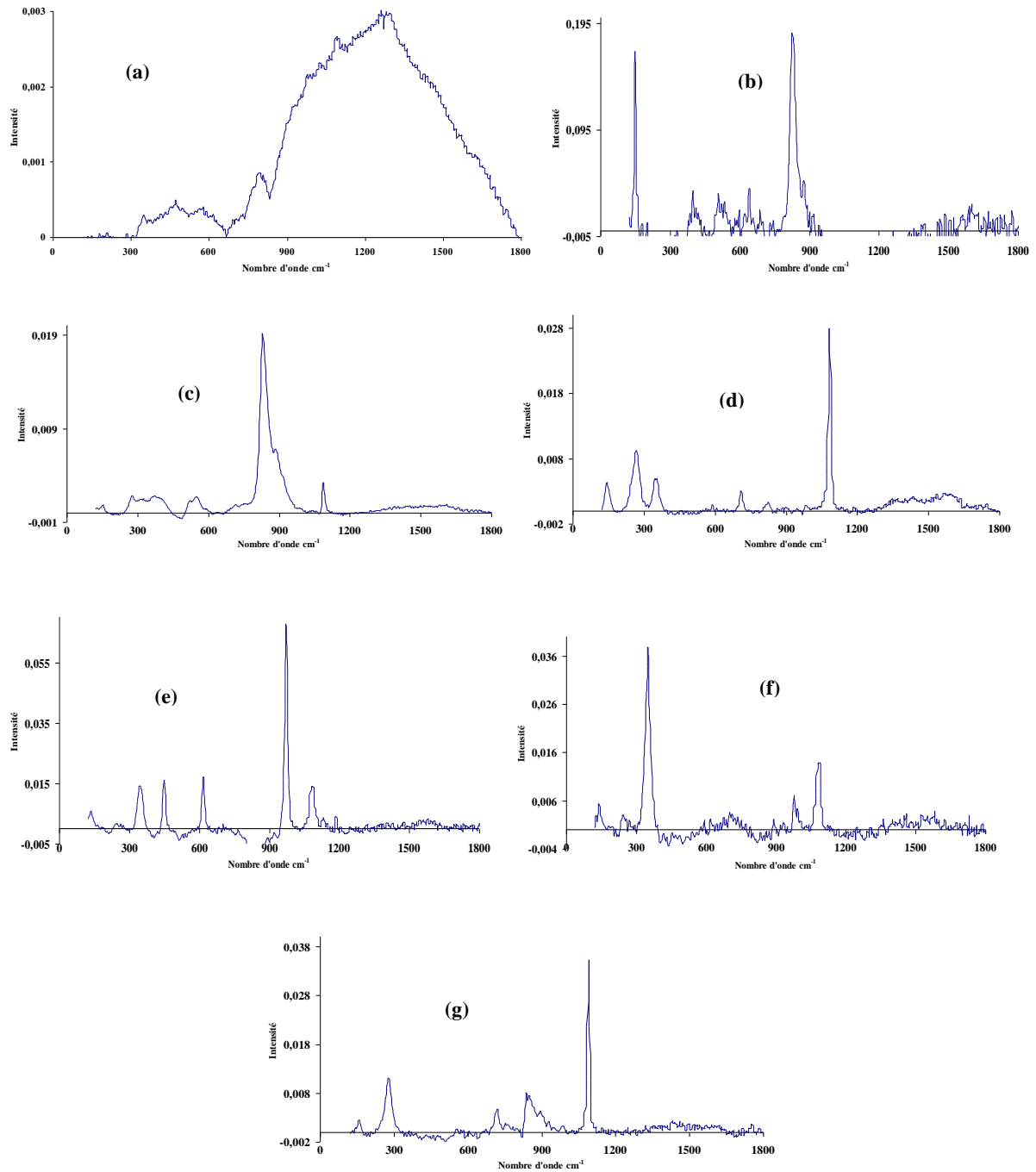


Figure IV-20 : Résultats SIMPLISMA pour 6 constituants extraits de l'échantillon E1R3.

La sixième composante, relative au spectre de la figure IV-20 (f), montre que celui-ci est représentatif d'un oxyde de silicium. En effet, la bande de plus grande intensité, située à 350 cm^{-1} peut être attribuée à la bande majeure de SiO_4 , ainsi que les raie de faible intensité à 977 et 246 cm^{-1} . Ce qui corrobore avec les travaux de Jehlicka et al., (2009), avec un décalage des raies. Cependant, il reste une contribution visible sur ce spectre Raman dans la région 1080 pouvant être affectée à un important constituant du ciment, avec un taux qui dépasse 62% , identifié par comparaison avec le spectre Raman réalisé au laboratoire en mode acquisition

sur CaO (Figure IV-21). Cet oxyde de calcium est le constituant majeur de toutes les phases du ciment.

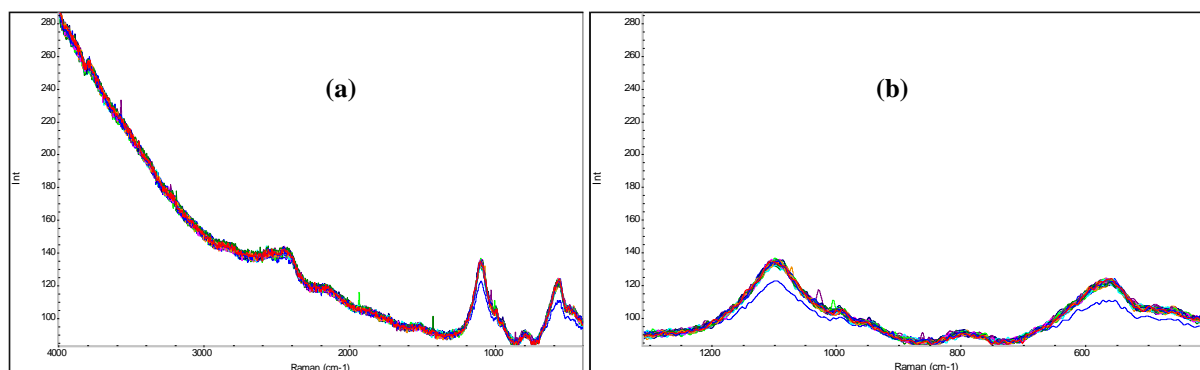


Figure IV-21 : Spectres de référence originaux de CaO pur réalisés au laboratoire, en mode cartographie ; (a) région 4000–400, (b) région 1200–400 cm^{-1}

La septième composante, relative au spectre de la figure IV-20 (g), montre que celui-ci n'est pas constitué d'un produit pur mais d'un mélange de carbonates. La raie Raman intense située à 1088 cm^{-1} , et les autres de moindre intensité à 715 , 276 , 153 cm^{-1} sont typiques de la calcite. Le décalage des raies étant de 2 cm^{-1} par rapport aux travaux de Sharma et al., (2007), Sobanska et Laureyns (2008) et Jehlicka et al., (2009).

L'omniprésence de la calcite dans les écosystèmes et son rôle dans la rétention des métaux traces, ainsi que son affinité pour les cations métalliques Cd^{2+} , Zn^{2+} et Pb^{2+} se double d'un effet d'inhibition de ces cations sur la solubilisation de la calcite dans l'eau (Neff, (2003).

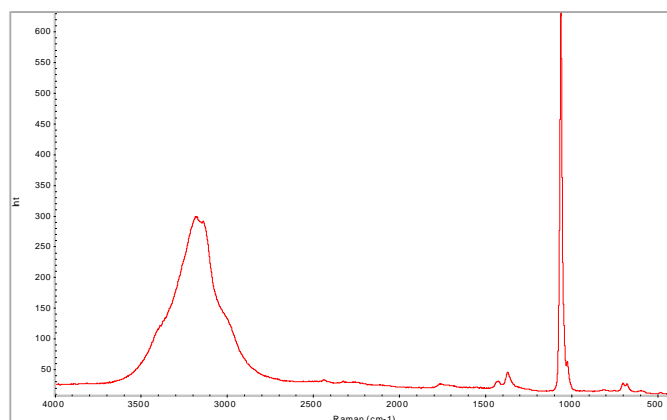


Figure IV-22 : Spectre de référence K_2CO_3 réalisé au labo (Raie principale $1061,05 \text{ cm}^{-1}$).

Les spectres de poussières acquis en imagerie Raman, de résolution 2 μm , ont permis d'identifier les particules associées aux entités carbonates et sulfates, avec une prédominance des carbonates devant les sulfates puis des silicates. En effet, les cartographies obtenues sur des zones de dimensions plus ou moins réduites témoignent de la présence d'une majorité d'agrégats de particules riches en carbonates, des particules contenant des associations de phases silicate dicalcium ou belite (C_2S), silicate tricalcium ou alite (C_3S) et tricalcium aluminate (C_3A) (où C : CaO ; S : SiO_2 , A : Al_2O_3) ; et enfin des particules et agrégats isolés constitués de Fer, de Titan ou de manganèse.

La Spectroscopie Raman a été utilisée avec succès dans le cadre de l'enquête des oxydes permettant l'identification précise des composés et l'accès aux deux régions de fréquence inférieure et supérieure dans le même spectre (De Farai and Lopes, 2007).

Parmi les méthodes de spectroscopie laser, La spectroscopie Raman linéaire se distingue par plusieurs avantages : Toutes les molécules organiques et les plus inorganiques sont Raman actives. Les spectres Raman fournissent des empreintes moléculaires et informations qui peuvent être utilisées pour identifier des constituants d'aérosols inconnus. Pour de nombreuses substances, les spectres du solide, gazeux, et l'état liquide sont différents et peuvent être séparés. Contrairement à la spectroscopie infrarouge, la spectroscopie Raman est également bien adaptée pour les systèmes aqueux. En outre, l'échantillon Raman diffusant peut être de n'importe quelle forme ou opacité (Sinanis, 2011).

L'analyse de mélange (SIMPLISMA) est une approche de variable pure réussie pour résoudre les données de mélange spectral. Une variable pure est définie comme une variable qui a des contributions significatives d'un seul des composants purs dans l'ensemble de données de mélange (Windig et al., 2002).

Chapitre V

Résultats et discussions des Teneurs en métaux dans les feuilles

Chapitre V

Résultats et discussions des Teneurs en métaux dans les feuilles

La phytotoxicité des métaux lourds dans la plupart des parties de la plante peut être attribuée à l'accumulation des métaux lourds, particulièrement dans les compartiments plasmatiques des cellules, tels comme le cytosol et le stroma chloroplastique. En outre, la compartimentation de la vacuole pour un surplus de concentrations de métaux semble être une forte composante de la stratégie de détoxification cellulaire de l'effet des métaux (Sharma and Dietz, 2006).

En zones polluées, principalement les stations S2, S3 et S5, le cyprès a tendance à répondre à la pollution en produisant plus de sucres solubles inversement au pin qui résiste en synthétisant des quantités de proline légèrement plus importantes. L'objet de cette réponse pourrait être l'augmentation des teneurs en métabolites dans la cellule pour exprimer la résistance au stress métallique ou peut être pour améliorer un processus de détoxification.

V.1. Teneurs en métaux

V.1.1. Teneurs en métaux dans la poussière collectée sur le système foliaire

Bien que les teneurs en métaux dans les solutions de lavages des feuilles soient assez faibles (inférieures à 1 ppm dans la plupart des cas), il est illusoire de penser que seules les concentrations trop élevées contribuent à porter des dégâts proprement dits. Les faibles teneurs peuvent engendrer des dommages préjudiciables aux conifères suite à l'effet d'accumulation, vu que le climat de pollution auquel sont soumises ces plantes est permanent. L'intérêt porte alors sur les concentrations de fond qui affectent les organes et tissus à long terme. Les teneurs les plus importantes sont celles enregistrées au niveau de la station témoin (S1). Ces observations laissent supposer que ce sont les teneurs optimales, laissant penser que la paroi cellulaire et la cuticule forment une barrière qui s'oppose au passage des éléments nocifs à l'intérieur de la plante.

V.1.2. Teneurs en métaux dans le tissu foliaire

Les teneurs en métaux mesurées dans le tissu foliaire des deux espèces sont supérieures à celles enregistrées dans les poussières; ce qui suppose qu'il y'a passage des éléments à travers la membrane cellulaire ; donc une fragilité de la paroi cellulaire. Des teneurs élevées en métaux sont enregistrées plutôt en Station témoin (S1) et au niveau de la station située dans le campus de l'université (S4). Ces deux stations sont supposées être loin de la pollution.

Les concentrations enregistrées en cadmium au niveau de toutes les stations varient considérablement d'un conifère à l'autre et sont amplement plus importantes que celles du zinc (Figures V-1). Ce phénomène a été remarqué par de nombreux auteurs tels que Baumann et al. (2009).

La substitution in vivo du magnésium (l'atome central de la chlorophylle), par les métaux lourds (mercure, cuivre, cadmium, nickel, zinc, plomb) mène à une rupture de la photosynthèse et constitue un mécanisme de dommages important pour les plantes soumises à un stress par les métaux lourds. Cette substitution du Mg par les métaux lourds pourrait avoir lieu spécifiquement dans les centres de réaction Photosystème II dans le chloroplaste, donc affecter directement le processus photosynthétique (Küpper et al., 1998).

Les arbres possèdent une considérable faculté de s'adapter au stress induit par les métaux toxiques. En dépit de cette capacité, il existe une importante variation d'aptitude chez les différentes espèces et populations d'arbres pour survivre et se développer en réponse aux teneurs élevées en métaux (Dickinson and Lepp, 1995).

La biosynthèse de la chlorophylle est inhibée par les métaux dans les plantes supérieures intactes (Prasad et Prasad, 1987), ainsi que dans les algues (De Filippis et al., 1981a, cités par Van Assche et Clijsters, 1990). Les métaux inhibent les étapes réductrices finales de la formation de la chlorophylle (Van Assche et Clijsters, 1990). La glycine-bétaïne et la proline sont les deux principaux osmolytes organiques accumulés dans diverses espèces végétales en réponse aux stress environnementaux tels que la sécheresse, la salinité, les températures extrêmes, les rayons UV et les métaux lourds (Ashraf et Foolad, 2007).

V.1.2.1. Teneurs en cadmium

Pour *Cupressus sempervirens*, les teneurs les plus importantes en cadmium sont enregistrées au niveau des stations S1 et S4, avec des moyennes de $0,3 \pm 0,01$ ppm et $0,2 \pm 0,00$ ppm respectivement (Figure V-1). Ces résultats suggèrent que, d'un côté, les polluants métalliques sont aéroportés dans les aérosols sur de grandes distances et, d'un autre, la station témoin et supposée située loin de toute forme de pollution, n'est pas à l'abri de la formation de dépôts de polluants chargés en Cadmium. Par contre, les teneurs sont faibles à nulles en S2, S3 et S5, suggérant que le cadmium pourrait être entièrement transloqués du tissu foliaire et accumulé dans d'autres organes, tels que les fruits, la tige ou le bois.

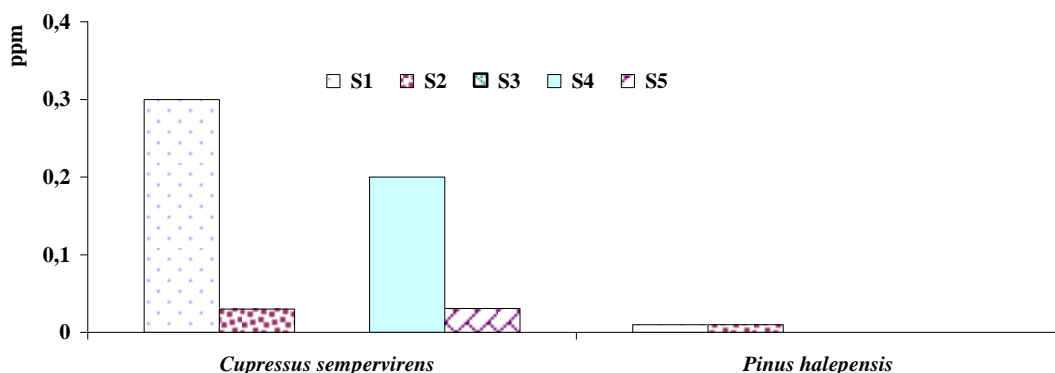


Figure V-1: Teneurs en cadmium dans le tissu foliaire (n = 30 ; p : 0,05)

La plupart des métaux, tels que le cadmium, étant bivalents, ont la capacité de se substituer à d'autres éléments bivalents essentiels, comme le calcium ou le zinc et de migrer dans la plante jusqu'aux tissus de réserve.

L'effet dépressif du Cd sur la photosynthèse serait dû à l'inhibition de la biosynthèse de la chlorophylle (Burzynski et Bukzek, 1989) ainsi qu'à une action sur le transport des électrons dans les chloroplastes (Lucero et al., 1976). Stobart et al., (1985) confirment que le Cd agit sur la croissance des plantes par désactivation de la synthèse de la chlorophylle ; cette inhibition représente le premier événement dans la toxicité du Cd dans la croissance des plantes.

Les cellules du mésophylle de la feuille de plantules de plantes exposées à du CdCl₂ pendant (seulement) 24 heures ont montré des changements structurels des chloroplastes, des mitochondries et des noyaux. Les chloroplastes provenant d'échantillons exposés au Cd²⁺ présentent des changements dans la forme des organites, une augmentation du volume du stroma et un dépôt de matériau dense en électrons dans la double membrane (Vitoria et al., 2006). Par ailleurs, la toxicité du cadmium ne dépend pas uniquement de son accumulation chez les espèces car, certaines, tolérantes de concentrations élevées en cuivre, ne le sont pas forcément pour le cadmium.

Les changements dans les membranes du chloroplaste ne sont pas drastiques, et une réorganisation des thylacoïdes et du stroma peut être observée. En revanche, la dégradation de l'enveloppe nucléaire des cellules végétales traitées au Cd²⁺ est très nette. L'accumulation de granules denses aux électrons est également observée dans les mitochondries (vitoria et al., 2006).

Cosio et al. (2006), rapportent certaines lésions macroscopiques dans le feuillage des arbres de *Salix viminalis*, tolérant au stress Cadmié, sous forme de chlorose et nécrose irrégulières sur les bordures des feuilles et qui augmentent avec l'âge de la feuille. Par autoradiographie, ils ont trouvé qu'un gradient d'accumulation de cadmium en fonction de l'âge de la feuille se fait préférentiellement dans les nervures des feuilles plus âgées mais uniformément distribué dans le feuillage jeune.

V.1.2.2. Teneurs en chrome

Selon Chatterjee and Chatterjee, (2000), la chlorose est due principalement à l'effet toxique du Cu et du Cr sur les racines. Ces effets indirects sont surtout causés par une altération de la concentration en minéraux nutritifs essentiels, une diminution de la photosynthèse nette comme conséquence de la fermeture des stomates, une réduction de l'espace intercellulaire et une altération des chloroplastes. D'après les résultats affichés sur la figure V-2, les teneurs en chrome paraissent largement plus élevées chez *Cupressus sempervirens*, au niveau de la Station S2, près de la cimenterie, avec une valeur dépassant 4 ppm, que pour *Pinus halepensis*. Par contre, la concentration est très faible à nulle au niveau de toutes les autres stations.

L'inhibition du transport des électrons induite par le chrome peut être due à son interaction avec le cuivre et le fer des transporteurs d'électrons (tels que les cytochromes) subissant des modifications rédox pendant le flux d'électrons (Dixit et al., 2002). En zone polluée, le cyprès paraît être une espèce accumulatrice de chrome, probablement pour les caractéristiques morphologiques de ses verticilles à court pétiole, associées à la rugosité des surfaces foliaires.

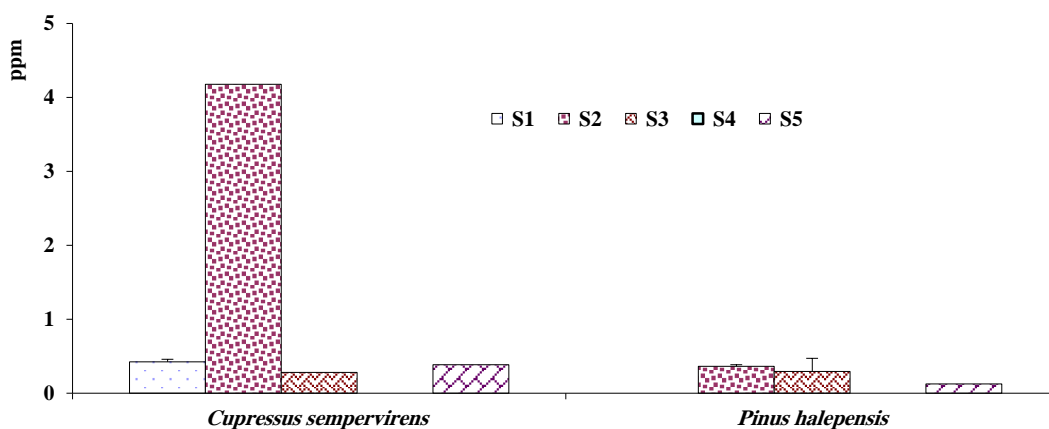


Figure V-2 : Teneurs en Chrome dans le tissu foliaire (n = 30 ; p : 0,05)

Un dépérissement général de toutes les parties de la plante est observé sous l'action de fortes teneurs en chrome se manifestant par la destruction de la chlorophylle (Moore, 1991) additionné à un déséquilibre dans la croissance (Samantaray et al., 1998).

V.1.2.3. Teneurs en cuivre

Contrairement à la très faible teneur calculée en chrome chez les conifères, celle en cuivre est d'un ordre de grandeur qui dépasse toute attente, chez *Pinus halepensis* en station témoin, avec une valeur qui dépasse 7 ppm (Figure V-3). Pour le cyprès, les concentrations sont très basses au niveau de toutes les stations.

Or pour Bernal et al., (2007), l'application de 50 μM de CuSO_4 sur les feuilles augmente le contenu de la chlorophylle. Ces résultats indiquent qu'aucune interaction antagoniste entre Cu et l'absorption du fer a eu lieu dans les plantes où un excès en Cu est appliqué sur les feuilles ; mais Cu entre en complétion avec l'absorption du Fe chez les plantes cultivées avec excès de Cu en milieu hydroponique. Les résultats indiquent fortement que des voies différentes d'absorption de Cu et son transport doivent fonctionner dans les cellules de la feuille par rapport aux cellules de la racine (Bernal et al., 2007).

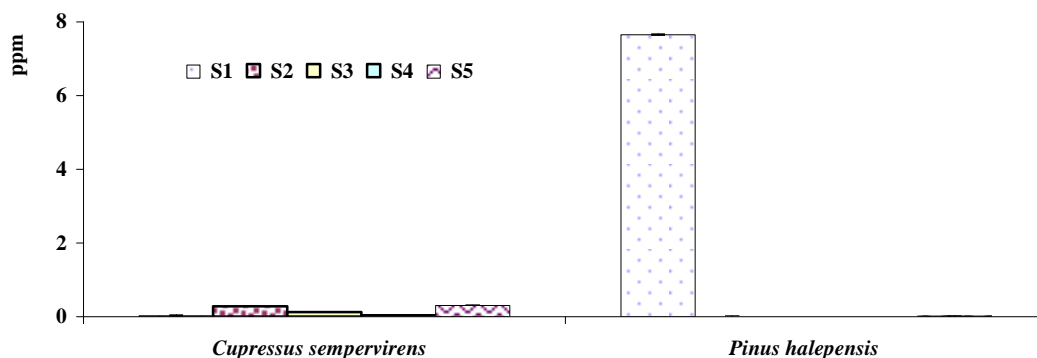


Figure V-3 : Teneurs en cuivre dans le tissu foliaire (n = 30 ; p : 0,05)

Les faibles concentrations de Cu causent environ 50% d'inhibition de la fluorescence de la chlorophylle a. La teneur réduite en chlorophylle observée dans les feuilles de plantes cultivées en présence de concentrations élevées de Cu rend les feuilles plus sensibles à la photoinhibition en raison d'une carence en Fe induite par le Cu (Yruela et al., 2000).

V.1.2.4. Teneurs en magnésium

Les deux conifères préconisés dans l'étude montrent des réactions totalement antagonistes vis-à-vis de l'accumulation du zinc dans les feuilles. On enregistre, pour le pin, de fortes

concentrations pouvant dépasser 16 et 12 ppm au niveau des stations les moins polluées (S1 et S4), respectivement, tandis que les teneurs les plus importantes pour le cyprès sont accumulées dans le tissu du limbe des feuilles provenant de sites pollués (S2 et S5). Ces valeurs demeurent assez faibles pour causer d'éventuels dommages car, selon Willaert et Verloo, (1990), le manganèse étant un oligoélément, sa phytotoxicité ne peut être prononcée qu'à des teneurs élevées (> 500 ppm) et les symptômes visuels d'une phytotoxicité au manganèse incluent des chloroses et des nécroses qui altèrent la morphologie de la feuille et provoquent une décoloration des racines ainsi qu'une diminution dans la concentration cellulaire en ATP (Jackson et al., 1990).

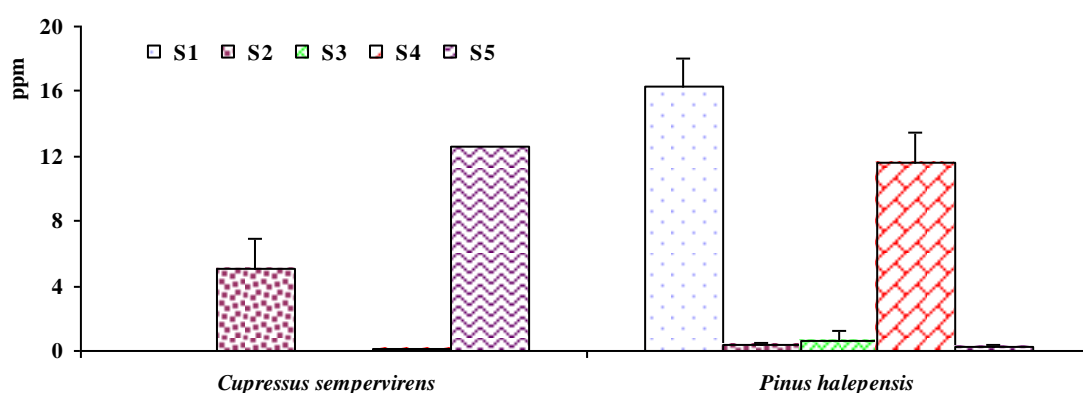


Figure V-4 : Teneurs en magnésium dans le tissu foliaire (n = 30 ; p : 0,05)

V.1.2.5. Teneurs en manganèse

Le manganèse est un micronutriment essentiel pour plusieurs processus métaboliques importants, tels que la photolyse de H₂O par le PSII ou pour l'assimilation de NO₂⁻ dans les chloroplastes (Fodor, 2002) et (Monteiro, 2009). Dans ce travail, le Mn a été mis en évidence dans les analyses par spectroscopie Raman et par diffraction des rayons X dans de nombreux échantillons de poussières, sous forme d'oxyde de manganèse. Ses effets toxiques sur la croissance des plantes interviennent dans plusieurs voies physiologiques et biochimiques, bien que les mécanismes ne soient pas encore connus de façon détaillée. Une assimilation plus élevée de l'oxygène ainsi qu'un dérèglement des systèmes enzymatiques dépendant du Mn ont été associés à la toxicité due à ce métal (Mukhopadhyay et Sharma, 1991).

Le Mn perturbe l'absorption, le transport et l'utilisation de divers éléments essentiels, comme le Ca, Fe, Cu, Al, Si, Mg, K, P et N. L'excès réduit l'apport de certains éléments et augmente celui d'autres. Le pH joue un rôle important dans l'absorption du Mn. Dans le cas d'un pH

acide, il n'y a pas assez de nitrate agissant comme accepteur alternatif d'électrons, et une grande quantité de Mn se retrouve dans les feuilles (Mukhopadhyay et Sharma, 1991). L'excès de Mn dans les feuilles diminue l'assimilation du CO₂ par une réduction du taux de chlorophylle dans les feuilles immatures avec aucun effet détecté sur les feuilles matures (Gonzalez et Lynch, 1999).

V.1.2.6. Teneurs en zinc

Dans les feuilles de *Pinus*, seule la station témoin montre la teneur la plus élevée avec une valeur de 26,64 ppm. Dans les verticilles du cyprès, c'est la station S3, en affichant une faible teneur (4,32 ppm). Les dépôts atmosphériques représentent la principale contribution aux niveaux de Cu et de Zn dans les mousses, dans les aiguilles et dans l'écorce du pin (Samecka-Cymerman et al., 2006). Van Assch and Clijsters (1990) rapportent que la phytotoxicité du Zn est confirmée aussi bien dans le contexte agricole qu'écologique et se manifeste par des nécroses et des chloroses.

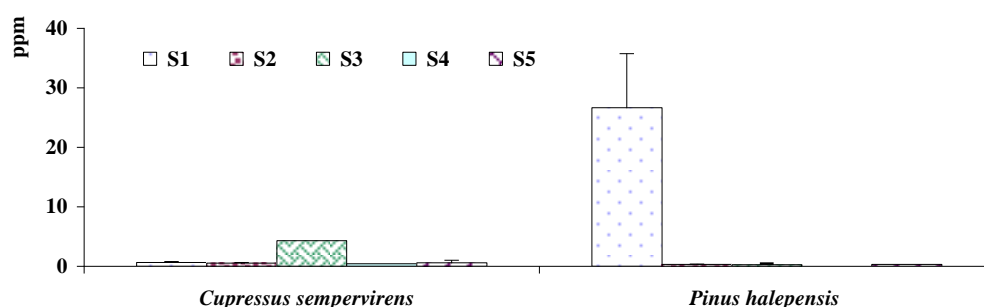


Figure V-5 : Teneurs en zinc dans le tissu foliaire (n =30 ; p : 0,05)

La toxicité du zinc est similaire à celle du chrome et plus grande que celle du cuivre. Le rendement de la fluorescence chlorophyllienne chez sept espèces d'algues étudiées par Baumann et al. (2009) est réduite à 0 à de fortes concentrations en zinc.

V.1.2.7. Teneurs en aluminium

L'importance fonctionnelle de l'accumulation de la proline induite par l'Aluminium dans des plantes de maïs tolérantes réside dans sa contribution dans la maintenance de la balance de l'eau, vu qu'il est connu par les perturbations provoquées dans la balance d'eau. Une exposition des plantes à l'Al provient suite à un déficit hydrique (Barcelo and Poschenrieder, 1990). Une diminution du déficit hydrique peut beaucoup contribuer à l'adaptation des plantes aux conditions de stress à l'aluminium (Gianakoula et al., 2008).

Tabuchi et al., (2004) ont montré que l'augmentation des teneurs en sucres solubles chez des cultivars de blé résistant à l'aluminium est liée à une diminution de l'allongement des racines, suggérant que le potentiel osmotique peut être faible en cas d'augmentation des teneurs en sucres solubles dans la sève des cellules. Tandis que Prasad and Strzałka, (2002) avancent que les changements de volume des chloroplastes, mitochondries et vacuoles, la dilatation des membranes, tubules, grana et thylacoïdes, la multinucléation, les perturbations des microfibrilles de la membrane ainsi que les changements dans de stockage des produits ont été observés dans plusieurs tests suite à un traitement aux métaux.

V.2. Corrélations entre les métaux

V.2.1. Corrélation et interaction entre Cd et Zn

Il n'est pas suffisant de connaître les concentrations de chaque polluant car leur effet sur les êtres vivants peut ne pas être simplement additif. Les propriétés anti-oxydantes du zinc jouent un important rôle dans l'atténuation de l'effet de toxicité du cadmium (Aravind et Prasad, 2005) et, un excès de zinc peut diminuer l'inhibition de la croissance de la plante et la fixation du CO₂ provoquées par le cadmium, parce que le zinc ne s'oppose pas seulement à l'absorption du cadmium mais également à sa translocation de la racine vers la tige (Cseh, 2002).

Cd et Zn possèdent une configuration électronique et une valence similaires, avec une affinité égale aux sulfures, nitrogène et oxygène (Aravind et Prasad, 2005). Cd et Zn sont deux des plus répandus et redoutables métaux lourds, mais il n'existe aucun moyen efficace de les éliminer du milieu. Les capacités d'accumulation des protoplastes sont modifiées selon que les plantes aient été pré-exposées au cadmium, ce qui indique surtout qu'à un seuil de concentration déterminé, des mécanismes de transport sont induits dans les cellules des feuilles (Casio et al., 2004), ce qui représente un cas d'exposition permanente à un environnement de pollution.

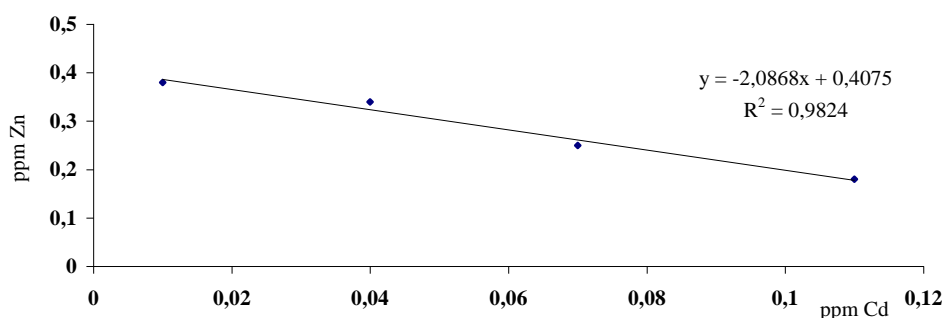


Figure V-6 : Corrélation entre les teneurs Cd et Zn dans la solution EDTA

Des corrélations positives ont été trouvées entre Cd et Zn ($r^2 = 0,85$), ainsi qu'entre Cu et Zn ($r^2=0,74$) dans les aérosols de la région de Saint Louis (USA). Ces régressions suggèrent que ces éléments proviennent d'une même source de pollution (Kaminski et Landsberger, 2000).

La corrélation est négative entre ces deux éléments ($r^2 = 0,9824$) dans la solution EDTA relative aux feuilles de *Cupressus* dans les différentes stations (Figure V-6). Ceci suggère qu'il y a un effet cumulatif entre le Zn et le Cd impliquant une intensification de la pollution par ces métaux chez cette espèce.

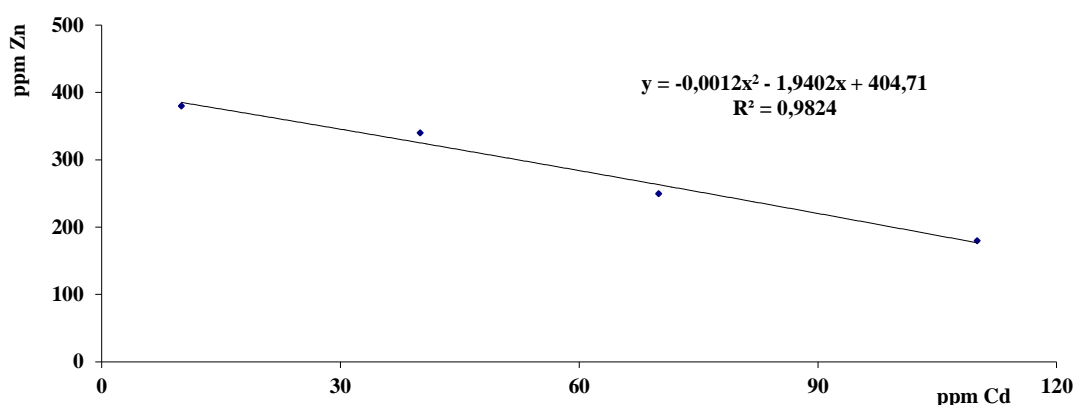


Figure V-7 : Corrélation entre les teneurs Cd et Zn dans la solution EDTA de lavage de feuilles de *pinus halepensis*

L'augmentation de l'accumulation de Zn dans le vieux feuillage; la faible désintoxication du Zn par le stockage dans les parois cellulaires; l'accumulation préférentielle de Zn dans les tissus inférieurs de la feuille à proximité des veines, souvent à l'intérieur des chloroplastes et rarement à l'intérieur de la vacuole constituent les propriétés antioxydantes de Zn jouant un rôle important dans la lutte contre la toxicité du Cd (Günthardt-Goerg et Vollenweider, 2007).

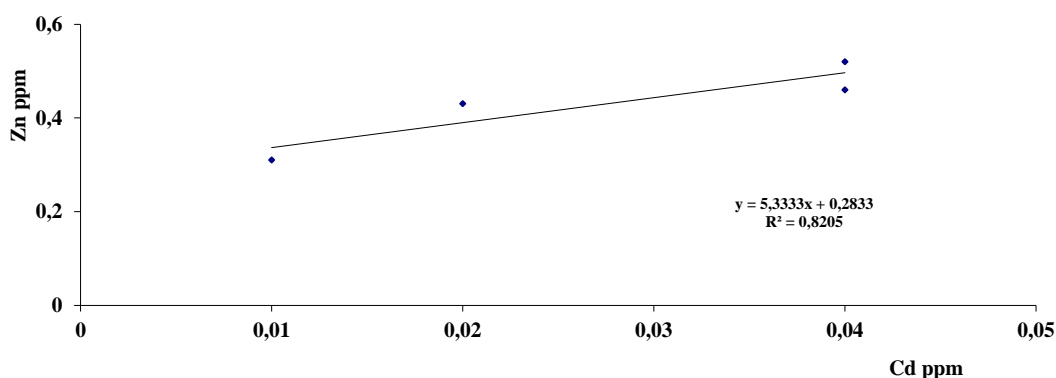


Figure V-8 : Corrélation entre les teneurs Cd et Zn dans la solution EDTA pH 2 dans les poussières recueillies sur les feuilles du *Cupressus*

V.2.2. Corrélation et interaction entre chrome et manganèse

La faible teneur en Mn accentue les effets de l'excès en Cr en réduisant davantage la biomasse réduite, la concentration en fer, les chlorophylles a et b, l'activité de la ribonucléase et en augmentant davantage la peroxydase, tandis que l'excès en Mn augmente l'activité de la réaction de Hill et celle de la phosphatase acide (Sinha et al., 2006).

V.2.3. Corrélation et interaction entre cuivre et manganèse

Il a été trouvé que Cu interfère avec l'absorption de Mn et son métabolisme. L'augmentation des teneurs en Cu induit une diminution du taux de Mn cellulaire ainsi qu'une réduction de la croissance évidente chez le phytoplancton océanique. L'effet inverse est observé en cas d'augmentation de la teneur en Mn (Prasad and Strzałka, 2002). Cu et Mn sont des métaux de transition impliqués dans les réactions redox de la cellule. Puisque les métaux de transition sont également des composants essentiels dans les centres de la réaction enzymatique, la carence induit également des symptômes de stress (Ducic and Polle, 2005).

V.2.34. Corrélation et interaction entre manganèse et magnésium

Le manganèse est surtout absorbé par les végétaux sous la forme bivalente Mn^{2+} qui entre efficacement en compétition avec l'ion Mg^{2+} et réduit substantiellement son taux d'absorption (Mukhopadhyay and Sharma, 1991).

Les effets de la phytotoxicité des métaux lourds se manifestent par une diminution de la biomasse, des Chl *a* et *b* et une faible activité de la catalase dans les feuilles avec une accumulation excessive de cobalt, de cuivre et de chrome dans les différentes parties de la plante (Chatterjee and Chatterjee, 2000).

Chez les plantes supérieures, la biosynthèse de la chlorophylle est inhibée par les métaux lourds, qui affectent deux enzymes connues par être très sensibles aux métaux lourds (l'acide δ -aminolevulinique déshydratase et la protochlorophyllide reductase) qui jouent un rôle capital dans la synthèse de la chlorophylle (Van Assche and Cligsters, 1990).

Selon les mêmes auteurs, la réduction de la protochlorophyllide est l'étape de la réaction qui est inhibée par le Cd. L'inhibition des enzymes par les métaux lourds a lieu dans le cycle de Calvin et concerne la Rubisco (Ribulose 1,5 biphosphate carboxylase/oxygenase); deux mécanismes sont décrits dans cette interaction :

- Interaction de Cd, Zn, Pb et Cu avec le SH, ce qui inhibe l'activité de l'enzyme,
- Substitution métallique de Mg^{2+} par Ni^{2+} , Mn^{2+} ou Co^{2+} .

Salt et al. (1995) et Zhu et al. (1999), rapportent que les métaux lourds et les métalloïdes tels que Cd, Pb, Hg, As et Se constituent un problème environnemental qui se répand et se développe dans le monde entier. Les plantes peuvent, toutefois, être utilisées pour atténuer les effets de ces métaux par accumulation, stabilisation ou en les transformant biochimiquement.

Bayens confirmait déjà depuis 1967 que le manganèse seul a un effet stimulant de la photosynthèse et que sa carence se manifeste par l'abaissement des taux de chlorophylle.

Les métaux agissent différemment sur les végétaux ; le cadmium, élément toxique dont l'accumulation provoque une réduction du diamètre des vaisseaux, empêche la circulation normale des flux et du transfert de l'eau mais cette toxicité pourrait être atténuée par la présence d'une concentration élevée en zinc. Il est reconnu également comme puissant inhibiteur de la biosynthèse de la chlorophylle (Stobart *et al.*, 1985).

Contrairement au Cd, Zn et Mg sont des éléments essentiels au développement normal des végétaux et leur présence dans la poussière simultanément à 1/100 (Cd/Zn) atténuerait l'effet nocif du Cd.

Vue l'importance du manganèse comme oligo-élément dans le développement et la croissance des végétaux, 10 individus ont été classés sur le plan principal 3-4, par rapport à l'accumulation du manganèse. D'après Heller (1981), certaines substitutions sont possibles et que certaines enzymes peuvent être activées indifféremment par plusieurs oligo-éléments parmi lesquels Mn, Co ou Zn.

Les arbres sont, d'après Dickinson and Lepp (1995), particulièrement résistants au stress métallique. Et peuvent de ce fait être utilisés dans l'épuration de l'air et l'élimination des particules polluantes.

Chapitre VI

Résultats des analyses par diffraction des rayons X sur les particules

Chapitre VI

Résultats des analyses par diffraction des rayons X sur les particules

Les aérosols, ou particules en suspension dans l'air ou même poussières, jouent différents rôles dans la chimie de l'atmosphère, qui les mettent au centre d'importantes préoccupations environnementales, tels que les changements climatiques et les problèmes de la qualité de l'air.

L'analyse qualitative des poussières recueillies sur le système foliaire des essences a été effectuée dans le but d'identifier les substances et éléments responsables des changements et dégâts observés aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur du végétal et ce, par diffraction des rayons X et spectroscopie Raman.

Cet examen a présenté des difficultés d'identification des constituants dues parfois au mélange complexe des nombreux composés réunis dans les poussières -et créant donc un chevauchement entre les phases- et d'autres fois à l'absence de références relatives à l'identification des particules sédimentables sur les végétaux induites par les multiples industries.

VI.1. Détermination des phases par diffraction des rayons X

Les analyses ont présenté les difficultés d'identification des constituants dues souvent au mélange complexe des nombreux composés réunis dans les poussières. Toutefois, l'examen des diagrammes de DRX nous a permis d'identifier plusieurs substances cristallines majeures : carbonates, sulfates et silicates ainsi que quelques autres dérivés du ciment. Ces substances sont associées à des ions métalliques ou non tels Ca^{2+} , Na^+ , Al^{3+} , Mg^{2+} ...

L'examen des diagrammes de diffraction des rayons X des échantillons étudiés ont permis l'identification de plusieurs composants minéraux majeurs. En effet, les échantillons soumis à la diffraction ont pu mettre en évidence cinq catégories de substances cristallines.

VI.1.1. Analyse des poussières déposées sur le feuillage des conifères

La catégorie la plus prédominante étant celle des sulfates, présents dans la moitié des échantillons, elle est représentée par les sulfates de Cu, de Ca et de (Mg, Mn). En suite les oxydes, rencontrés dans les échantillons sous forme d'oxydes de Mn et de Si ; puis les sulfides au niveau de deux échantillons et en fin, les silicates et les carbonates.

En partant de l'hypothèse que les échantillons sont constitués d'un mélange de matériaux (non purifiés), la DRX nous a permis d'identifier la nature de quelques formes cristallographiques. En effet, la plupart des échantillons présentent des caractéristiques cristallographiques similaires : abondance de quelques dérivés du ciment, de sulfates, d'oxydes et de carbonates.

VI.1.1.1. Echantillon 1

Le nombre de phases le plus important dans un même diagramme fut celui retrouvé dans les poussières prélevées sur les aiguilles de *Pinus halepensis*, dans le diffractogramme représenté sur la figure VI-1, de l'emplacement de la station S3 où le trafic de route est accentué, associé aux dépôts sédimentés.

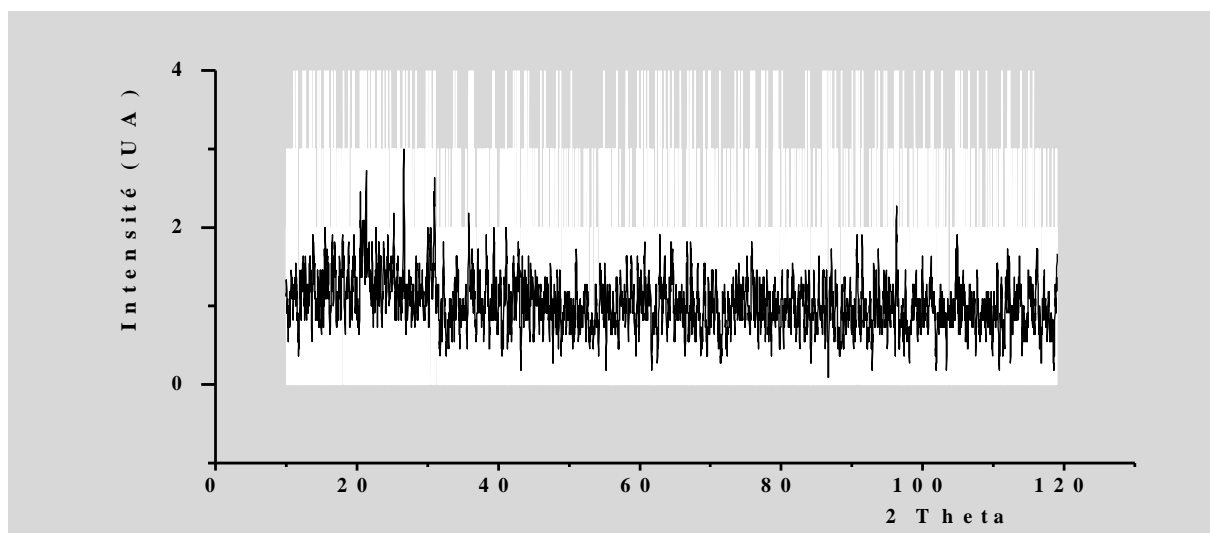


Figure VI-1 : Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 1 des poussières prélevées sur les aiguilles de *Pinus halepensis* en S3

Cet échantillon renferme quatre catégories d'espèces chimiques indiquées plus haut. Les tableaux suivants distinguent les six phases retrouvées simultanément dans cet échantillon et leurs distances interréticulaires. Cela représente probablement l'accumulation à long terme des polluants véhiculés dans la région. La classe des sulfates est représentée par le sulfate de calcium dihydraté ou gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), composé prédominant du ciment dont la fiche ASTM est 33-0311 (Tableau VI-1). L'écart maximum des distances interréticulaires est de 1,7 %.

Tableau VI-1 : Distances interréticulaires de l'échantillon **1** et celles du sulfate de calcium dihydraté ou gypse ($\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (33-0311) et leurs écarts.

| Gypse ($\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (33-0311) (1980), Syst. Monoclinique | | | |
|---|-------------------|-----|---------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | $ \Delta d $ |
| 4,3006 | 4,283 | 021 | 0,0176 |
| 2,7767 | 2,789 | 112 | 0,0123 ² |
| 3,7900 | 3,799 | 130 | 0,009 |
| 2,0629 | 2,074 | 311 | 0,011 |

(L'échantillon **1** représente les dépôts sédimentés sur *Pinus halepensis* de la station S3).

Le second sulfate présent dans l'échantillon **1** est le sulfate de manganèse-magnésium hydraté ou "chvaleticeite" ($\text{Mn, Mg SO}_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$), dont l'ensemble des raies de la fiche ASTM (42-0614) semble en bon accord avec celles de l'échantillon (Tableau VI-2). L'écart maximal des distances interréticulaires mesurées et celles de la fiche ASTM est de 4,3 L. Cette phase est une composante majeure du clinker où elle représente 3,5 % de sa matière première.

Tableau VI-2 : Distances interréticulaires de l'échantillon **1** et celles du sulfate de manganèse magnésium ($\text{Mn, Mg SO}_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (42-0614) et leurs écarts.

| (Mn, Mg) $\text{SO}_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (42-0614) (1986), Syst. Monoclinique | | | |
|--|-------------------|-----|--------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | $ \Delta d $ |
| 5,4690 | 5,45 | 112 | 0,019 |
| 4,9535 | 4,91 | 202 | 0,043 |
| 3,6857 | 3,69 | 020 | 0,004 |
| 3,4855 | 3,42 | 206 | 0,065 |

L'oxyde de manganèse, selon la banque de données de l'International Center of Diffraction Data (1997) est un constituant majeur du ciment. Entre 52 et 95 % de l'argile rouge et 50 à 53 % de l'argile brune, entrant dans la constitution de la matière première du ciment, sont des molécules de silice (SiO_2).

Deux oxydes ont été identifiés dans l'échantillon **1**, ce sont l'oxyde de manganèse, variété ($\gamma\text{-MnO}_2$) dont la fiche ASTM est 14-0644, représentée dans le tableau VI-3 où le maximum d'écart entre les distances est évalué à 4,9 % ; et l'oxyde de silicium (SiO_2) avec sa fiche ASTM 47-1300 dont les distances figurent dans le tableau VI-4 et l'écart maximal est de 3,9 %.

Tableau VI-3 : Distances interréticulaires de l'échantillon **1** et celles de l'oxyde de manganèse, variété γ -MnO₂ (14-0644) et leurs écarts.

| γ -MnO ₂ (14-0644) (1962), Syst. Orthorhombique | | | |
|---|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 3,9109 | 3,96 | 120 | 0,049 |
| 2,3353 | 2,32 | 230 | 0,015 |
| 2,0629 | 2,05 | 002 | 0,012 |
| 1,3587 | 1,362 | 003 | 0,003 |
| 1,2033 | 1,211 | 081 | 0,007 |
| 1,1613 | 1,169 | — | 0,007 |
| 1,1089 | 1,104 | 272 | 0,004 |
| 1,0749 | 1,066 | 253 | 0,017 |

Le manganèse est un élément trace essentiel activant de nombreuses enzymes impliquées dans les processus de la photosynthèse, de la respiration, de la synthèse des protéines, des lipides et des carbohydrates. L'excès de concentration en Mn est stocké dans les vacuoles, les parois cellulaires et les thylacoïdes des chloroplastes. Les symptômes de toxicité attribués à l'absorption du Mn par la plante sont mentionnés par de nombreux auteurs parmi lesquels, on peut citer Boojar et Goodarzi (2008), les symptômes incluent des taches brunes sur le feuillage adulte, des chloroses et nécroses internervaires, une déformation des jeunes feuilles et un aspect de brûlures sur les pointes des feuilles.

Tableau VI-4 : Distances interréticulaires de l'échantillon **1** et celles de l'oxyde de silicium (SiO₂) (47-1300) et leurs écarts.

| SiO ₂ (47-1300) (1990) | | | |
|-----------------------------------|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 2,5097 | 2,493 | — | 0,0167 |
| 1,8195 | 1,859 | — | 0,0395 |

Les études sur la sève du xylème chez diverses espèces ont montré que le silicium (Si) pénètre dans les parties aériennes des plantes sous forme d'acide monosilicique. Avec l'âge, il y a une augmentation systématique des teneurs en Si total correspondant à un dépôt de silice solide. La teneur en silice varie beaucoup selon les diverses parties de la plante et même entre feuilles. Avec la perte d'eau par transpiration, l'acide monosilicique se polymérise pour former de la silice solide qui tend donc à se déposer en plus grandes quantités dans les parties qui perdent le plus d'eau (Loué, 1993).

Tableau VI-5 : Distances interréticulaires de l'échantillon **1** et celles du sulfide de fer (FeS₂), variété Marcasite (02–1342) et leurs écarts.

| Marcasite (FeS ₂) (02–1342), Syst. orthorhombique | | | |
|---|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 2,0047 | 1,94 | 121 | 0,064 |
| 1,8095 | 1,75 | 211 | 0,0595 |
| 1,5665 | 1,58 | 031 | 0,013 |

Les sulfides sont représentés par deux variétés de la phase sulfide de fer ou FeS₂ : marcasite (02–1342) dont les raies sont regroupées dans le tableau VI-5 et la pyrite où l'ensemble des raies coïncident avec celles de la fiche ASTM (02–1370) affichées dans le tableau VI-6. Les écarts maxima entre les distances mesurées et celles des fiches ASTM sont respectivement de 5,9 % et 1,9 %. Comme la silice, le fer est un composant chimique primaire de la matière première du ciment, sous forme de sulfides ou d'oxydes de fer à des concentrations pouvant aller jusqu'à 7 %.

Tableau VI-6 : Distances interréticulaires de l'échantillon **1** et celles du sulfide de fer (FeS₂), variété Pyrite (02–1370) et leurs écarts.

| Pyrite (FeS ₂) (02–1370) (1933), Syst. cubique | | | |
|--|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 2,7165 | 2,70 | 200 | 0,016 |
| 1,2033 | 1,21 | 420 | 0,006 |
| 1,1303 | 1,15 | — | 0,019 |
| 0,9884 | 0,98 | 521 | 0,008 |

En dernier lieu, on rencontre dans l'échantillon **1** du silicate de calcium aluminium hydraté (CaAl₂ (SiO₃)₄–6H₂O, composé argileux prédominant, de la catégorie des silicates dont la fiche ASTM est 15–0179 et les distances des raies sont affichées dans le tableau VI-7 et qui est un composé argileux prédominant. L'écart des distances étant de 5,2 %.

Tableau VI-7 : Distances interréticulaires de l'échantillon **1** et celles du silicate de calcium aluminium hydraté (CaAl₂ (SiO₃)₄–6H₂O (15–0179) et leurs écarts.

| CaAl ₂ (SiO ₃) ₄ –6H ₂ O (15–0179) (1961) | | | |
|--|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 4,6123 | 4,60 | — | 0,012 |
| 4,4441 | 4,48 | — | 0,035 |
| 3,7900 | 3,78 | — | 0,010 |
| 3,3513 | 3,32 | — | 0,029 |
| 1,7180 | 1,666 | — | 0,052 |
| 1,2033 | 1,218 | — | 0,014 |

VI.1.1.2. Echantillon 2

Trois autres échantillons contiennent la même variété de $\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et sont représentés sur la figure VI-2 relative aux poussières prélevées sur *Cupressus sempervirens* de la station S3. L'ensemble des raies de l'échantillon étant représenté dans le tableau VII-8. Et les écarts des distances mesurées et celles relatives à la fiche ASTM correspondante sont de l'ordre de 4 %.

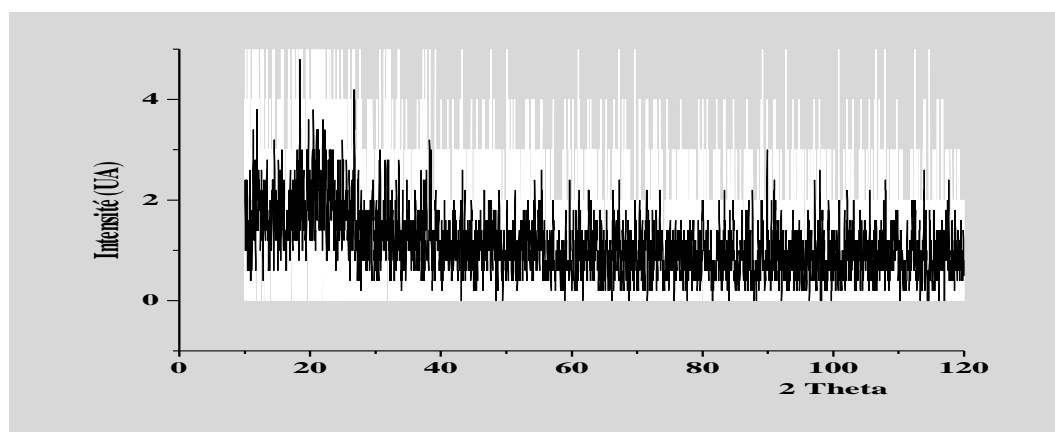


Figure VI-2 : Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 2 de poussières prélevées sur *Cupressus sempervirens* en S3

L'échantillon 2 représente des poussières collectées sur le feuillage de *Cupressus sempervirens* en S3. Il contient principalement du Gypse ou $\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dont les raies principales coïncident avec celles de la fiche ASTM (06-0046).

Tableau VI-8 : Distances interréticulaires de l'échantillon 2 et celles du sulfate de calcium dihydraté ou gypse ($\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (06-0046) et leurs écarts.

| Gypse ($\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (06-0046), Syst. Monoclinique | | | |
|--|-------------------|------------|--------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | $ \Delta d $ |
| 7,5200 | 7,56 | 020 | 0,040 |
| 4,2230 | 4,27 | 121 | 0,047 |
| 2,8940 | 2,867 | 002 | 0,027 |
| 2,4102 | 2,400 | 141 | 0,010 |
| 2,0829 | 2,080 | 123 | 0,002 |
| 1,8179 | 1,812 | 262 | 0,003 |

(L'échantillon 2 représente les particules déposées sur les aiguilles de *Cupressus sempervirens* S3)

VI.1.1.3. Echantillon 3

L'échantillon 3 est relatif aux poussières collectées sur les feuilles de *Pinus halepensis* en station S2 (Figure VI-3). Il contient une variété de ($\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$), correspondant à la fiche ASTM (33-

0311) dont les raies sont assignées au tableau VI-9. L'écart maximal des distances interréticulaires de l'échantillon et de la fiche ASTM est de 0,6 %.

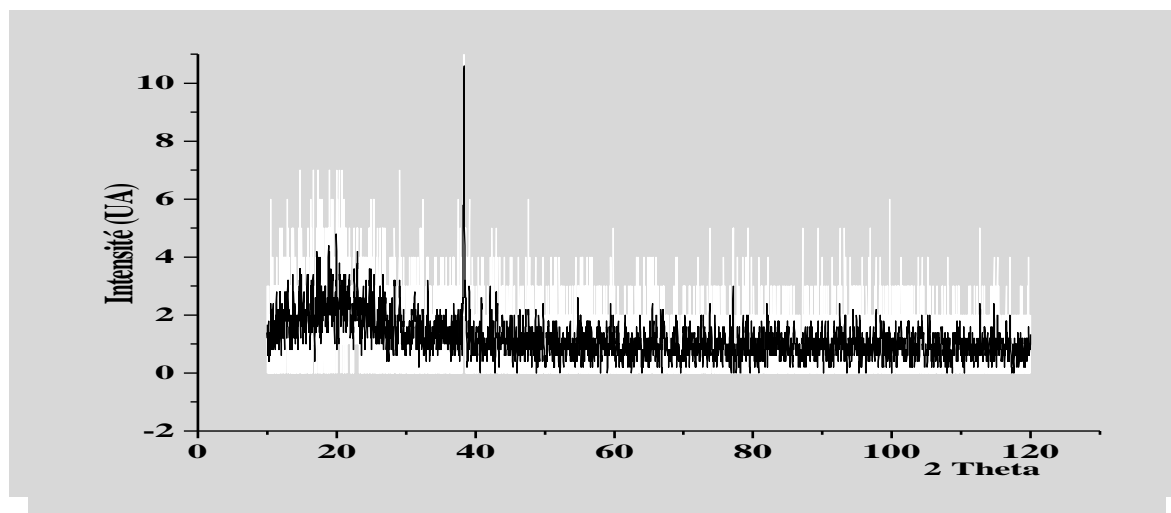


Figure VI-3 : Diagramme de diffraction RX de l'échantillon **3** des poussières collectées sur les feuilles de *Pinus halepensis* en S2

L'oxyde de manganèse contenu dans les autres échantillons est identifié comme α -MnO₂ (Figures VI-3 et VI-4), ses distances interréticulaires coïncident avec celles de la fiche ASTM 44-0141 et sont regroupées dans les tableaux VI-11 et VI-12 où les écarts maxima des distances interréticulaires des échantillons et celles des fiches ASTM sont de 3,9% pour chacun. Le traitement des résultats a mis en évidence de nombreux autres composés qui n'ont pas pu être identifiés.

Tableau VI-9 : Distances interréticulaires de l'échantillon **3** et celles du sulfate de calcium dihydraté ou gypse (CaSO₄-2H₂O) (33-0311) et leurs écarts.

| Gypse (CaSO ₄ -2H ₂ O) (33-0311), Syst. Monoclinique | | | |
|--|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 4,2893 | 4,283 | 021 | 0,006 |
| 3,7940 | 3,799 | 040 | 0,005 |
| 3,1332 | 3,172 | 111 | 0,038 |
| 3,0584 | 3,065 | 041 | 0,006 |
| 2,7788 | 2,789 | 112 | 0,010 |
| 2,7470 | 2,732 | 131 | 0,015 |

(L'échantillon **3** représente les particules déposées sur les feuilles de *Pinus halepensis* S2)

VI.1.1.4. Echantillon 4

L'échantillon 4 représente des poussières prélevées sur les folioles de *Pinus halepensis* en station témoin S1, dans lequel, plusieurs constituants ont pu être identifiés tels que l'oxyde de manganèse et le sulfate de calcium, analogues à ceux retrouvés dans les aérosols collectés au niveau des stations polluées (Figure VI-4).

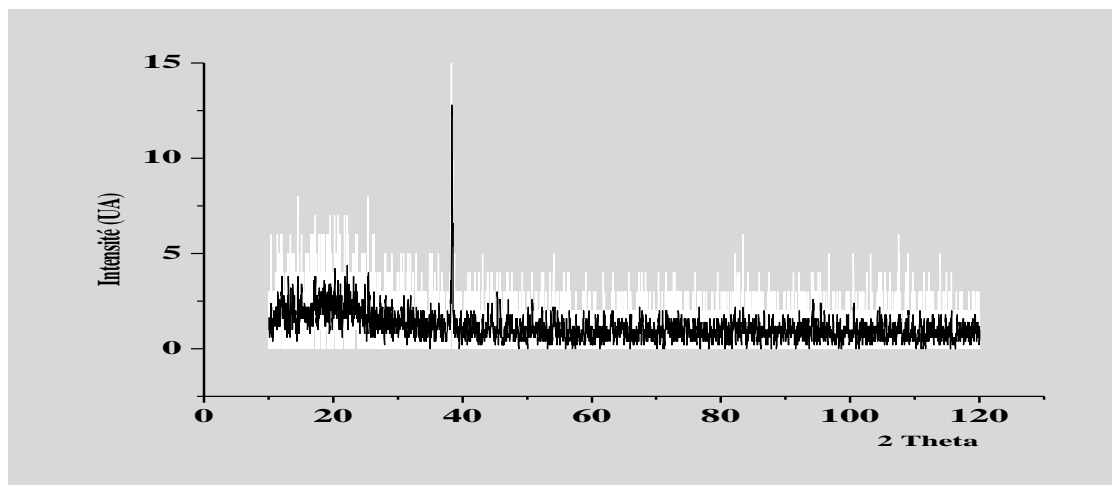


Figure VI-4 : Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 4 des poussières prélevées sur les folioles de *Pinus halepensis* en S1

Une autre variété de l'oxyde de manganèse a été identifiée dans l'échantillon 4 correspondant aux poussières déposées sur les feuilles de *Pinus halepensis* en S1 (Figure VI-4). Dans la banque de données de l'International Center for Diffraction Data, cette variété de MnO_2 est classée dans la fiche ASTM 42-1316 sous le nom de "minéral anonyme". Ses distances interréticulaires sont consignées dans le tableau VI-13 et coïncident parfaitement avec les trois raies principales aux intensités 100, 75 et 50%. L'écart maximum des distances étant de 1,4 % (Tableau VI-10).

Tableau VI-10 : Distances interréticulaires de l'échantillon 4 et celles du sulfate de calcium dihydraté ou gypse ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$) (33-0311) et leurs écarts.

| Gypse ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$) (33-0311), Syst. Monoclinique | | | |
|--|--------------|------------|--------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | $ \Delta d $ |
| 7,5886 | 7,63 | 020 | 0,041 |
| 4,2670 | 4,283 | 021 | 0,016 |
| 2,8990 | 2,873 | 221 | 0,026 |
| 2,4000 | 2,406 | 241 | 0,006 |
| 2,3091 | 2,291 | 240 | 0,018 |
| 2,0829 | 2,086 | 242 | 0,003 |
| 1,8235 | 1,8118 | 062 | 0,011 |
| 1,5182 | 1,5209 | 422 | 0,002 |

Tableau VI-11 : Distances interréticulaires de l'échantillon **3** et celles de l'oxyde de manganèse, variété α -MnO₂ (44-0141) et leurs écarts.

| α -MnO ₂ (44-0141) Syst. Tétragonal | | | |
|---|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 4,9217 | 4,895 | 200 | 0,026 |
| 3,4528 | 3,462 | 220 | 0,009 |
| 2,3471 | 2,395 | 211 | 0,047 |
| 2,3279 | 2,307 | 330 | 0,020 |
| 2,1116 | 2,151 | 301 | 0,039 |
| 1,9018 | 1,9174 | 510 | 0,015 |
| 1,1183 | 1,1175 | 741 | 0,0008 |
| 1,0604 | 1,0757 | 602 | 0,015 |

Les mêmes phases de gypse et d'oxydes de manganèse ont été retrouvées par micro diffraction des rayons X dans des échantillons de poussières et d'aérosols dans les travaux de Chianelli et al., (1998) à Mexico City où la pollution atmosphérique est accentuée.

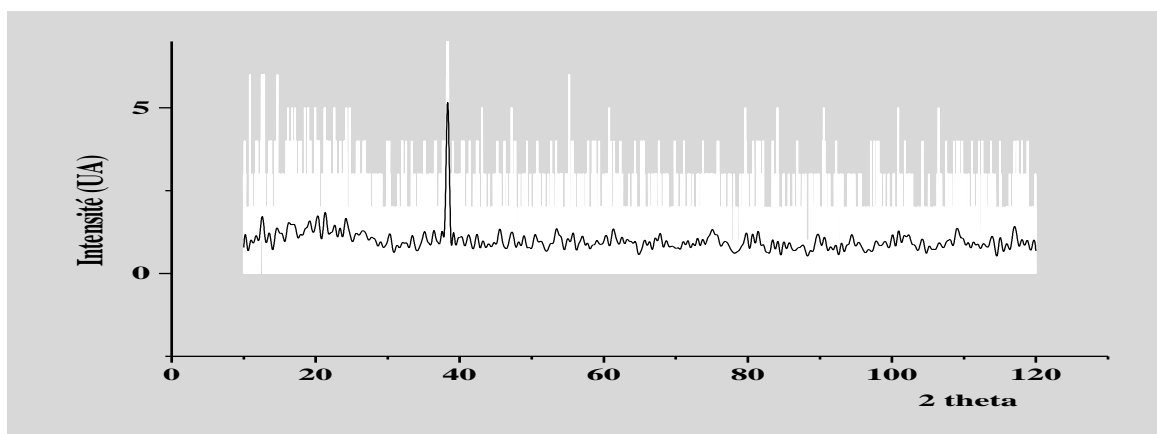


Figure VI-5 : Diagramme de diffraction RX de l'échantillon **5** des poussières prélevées sur les aiguilles de *Cupressus sempervirens* en S3

La phase FeS₂, variété pyrite, vérifiée dans l'échantillon **1** a été identifiée au niveau de la station S2 dont les poussières ont été extraites à l'HCl (Figure VI-6) ; le tableau VI-14 regroupe les distances interréticulaires de cet échantillon avec celles de la pyrite. L'écart maximum entre les distances de l'échantillon et de la fiche ASTM (02-1370) est de 3,6 %.

Tableau VI-12 : Distances interréticulaires de l'échantillon **5** et celles de l'oxyde de manganèse, variété α -MnO₂ (44-0141) et leurs écarts.

| α -MnO ₂ (44-0141) Syst. Tétragonal | | | |
|---|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 6,8795 | 6,919 | 110 | 0,039 |
| 2,3771 | 2,395 | 211 | 0,0179 |
| 0,9987 | 0,9949 | 712 | 0,0038 |

L'échantillon **5** représente les particules déposées sur les feuilles de *Cupressus sempervirens* en station S3.

Selon Sinha et al., (2009), l'excès en certains métaux lourds comme le cuivre, le zinc, ou le manganèse, interférant avec le métabolisme du fer peut induire des changements ressemblant à une déficience en fer ; et il n'est pas encore bien établi si la plante fournit une réponse à cet excès et/ou déficience en dehors de l'évidence que l'excès en fer induit des dommages phytotoxiques, des changements biochimiques, altérations de la constitution chimique...

Tableau VI-13 : Distances interréticulaires de l'échantillon **4** et celles de l'oxyde de manganèse, MnO₂ (42-1316) et leurs écarts.

| MnO ₂ (42-1316) Syst. Orthorhombique | | | |
|---|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 4,2030 | 4,215 | 101 | 0,012 |
| 4,7638 | 4,766 | 200 | 0,002 |
| 2,3832 | 2,369 | 111 | 0,014 |

Un seul échantillon de poussières a montré clairement l'existence d'une phase de sulfide de plomb (Pb₂SiS₄) sur les aiguilles de *Cupressus sempervirens* en S2 (Figure VI-7) ses distances interréticulaires coïncident avec celles de la fiche ASTM 25-0457 et sont données dans le tableau VI-15 où l'écart maximum entre les distances de l'échantillon et de la fiche ASTM (25-0457) est de 2,1 %.

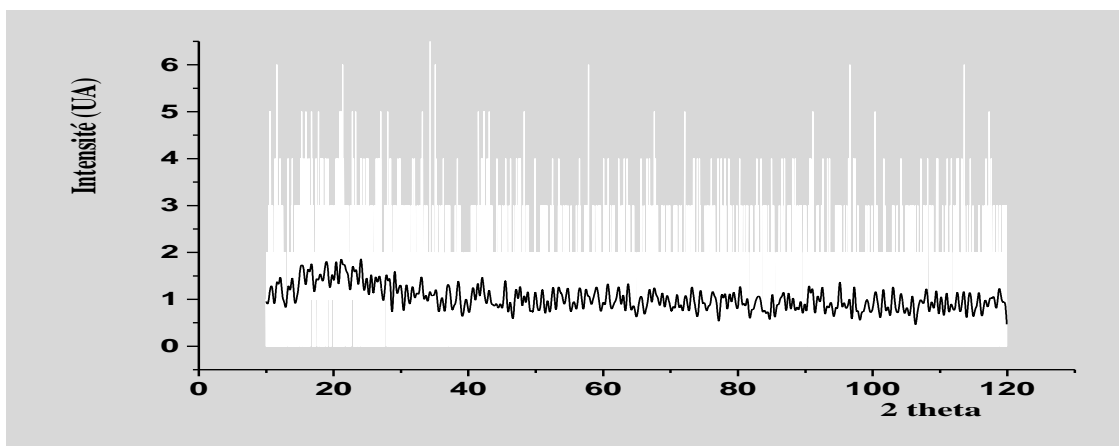


Figure VI-6 : Diagramme de diffraction RX de l'échantillon **6** des poussières prélevées sur les aiguilles de *Pinus halepensis* en S2 (HCl)

Le plomb peut se trouver sous plusieurs formes dans la poussière. Les particules de plomb dans l'atmosphère proviennent des émissions automobiles sous forme de sels de plomb (PbBrCl) et d'ammonium (2PbBrCl NH₄Cl) comme elles peuvent provenir des mines et des fonderies sous forme de PbSO₄; PbO.PbSO₄ et PbS, alors qu'il existait naturellement dans l'atmosphère sous forme de PbCO₃ et de PbSO₄ (EPA, 1986).

Tableau VI-14 : Distances interréticulaires de l'échantillon **6** et celles de la pyrite FeS₂ (02–1933) et leurs écarts.

| FeS ₂ (02–1370) Syst. Cubique | | | |
|--|-------------------------|------------|-------------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | \Delta d |
| 3,1556 | 3,12 | 111 | 0,036 |
| 2,6636 | 2,70 | 200 | 0,036 |
| 2,1825 | 2,21 | 211 | 0,027 |
| 2,1313 | 2,11 | — | 0,021 |
| 1,8800 | 1,91 | 220 | 0,030 |
| 1,0299 | 1,04 | 511 | 0,010 |
| 1,0033 | 1,00 | 250 | 0,003 |
| 0,9202 | 0,92 | 433 | 0,0002 |
| 0,9009 | 0,90 | 600 | 0,0009 |

La multitude des espèces de plomb dans les sols contaminés par les activités industrielles, principalement les fonderies, est due aux émissions atmosphériques à long terme et à la variété du plomb contenu dans les phases émises simultanément dans l'atmosphère puis déposées sur le sols (Manceau et al., 1997) et sur les végétaux, surtout les surfaces foliaires.

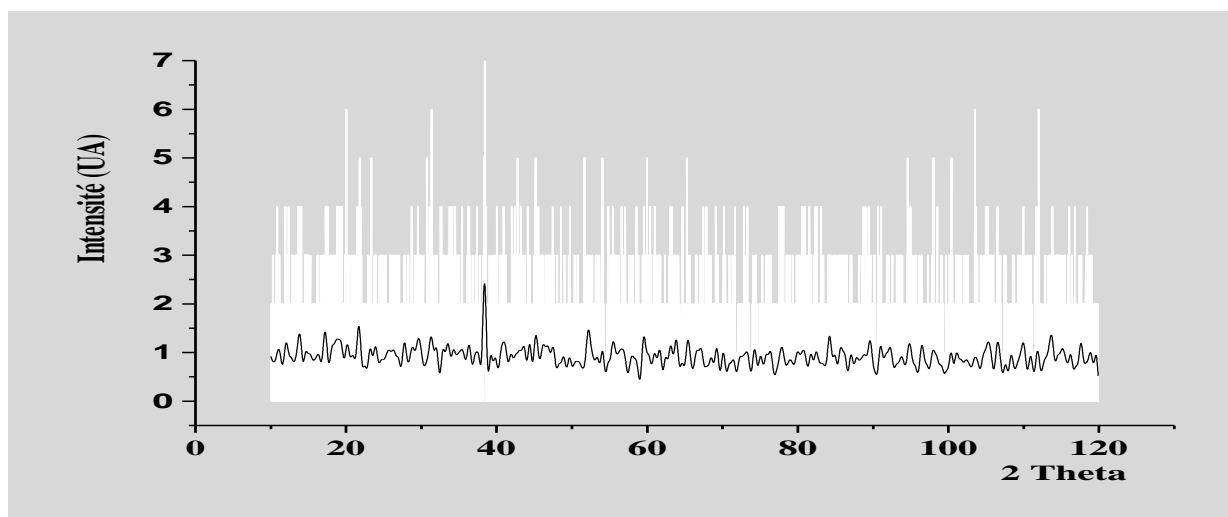


Figure VI-7 : Diagramme de diffraction RX de l'échantillon 7 des poussières prélevées sur les aiguilles de *Cupressus sempervirens* en S2

Il a été suggéré par Olson et al. (1975) cités par Harrison et al. (1981) que PbSO_4 cristallin peut être la forme prédominante de plomb sur les routes et les sols des bordures empoussiérées. Mais le fait qu'il ne soit pas mis en évidence dans les autres échantillons, bien que ceux-ci soient réellement exposés à plusieurs formes de pollution, principalement au niveau des stations S2, S3 et S5, est probablement dû à ses interactions organiques de grande importance (Harrison et al., 1981). L'analyse par microspectrométrie Raman a permis d'identifier trois principales espèces de plomb, identifiées au sein d'échantillons de poussières analysés, telles que $\alpha\text{-PbO}$, PbO.PbSO_4 et PbSO_4 . En outre, $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (hématite), Na_2SO_4 (thénardite) et $\text{CaSO}_4.2\text{H}_2\text{O}$ (gypse) sont systématiquement observés dans tous les échantillons de poussières ; et l'analyse élémentaire des particules fixées sur la surface foliaire révèle principalement la présence de Pb. Les analyses Raman montrent que le plomb est majoritairement sous forme de sulfates (PbSO_4) et que Fe est sous forme d'oxydes (Fe_2O_3) (Dappe et al., 2015).

Tableau VI-15 : Distances interréticulaires de l'échantillon 7 et celles du sulfide de plomb Pb_2SiS_4 (25-0457) et leurs écarts.

| Pb ₂ SiS ₄ (25-0457) Syst. Monoclinique | | | |
|---|-------------------------|------------|-------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | Δd |
| 4,4685 | 4,49 | 110 | 0,0215 |
| 1,7727 | 1,775 | 312 | 0,0023 |

En s'accumulant dans la plante, principalement dans les chloroplastes et les parois, le plomb agit sur l'hydratation des cellules et la diminution des teneurs en chlorophylles *a* et *b*, comme il freine

la phosphorylation de la photosynthèse. Mais cette accumulation favorise l'augmentation de la teneur en sucres solubles (Khalef, 1994).

L'examen du diagramme de diffraction RX de l'échantillon relatif aux poussières prélevées sur les feuilles du *Cupressus sempervirens* en S5 (Figure VI-8) a permis de constater la présence d'une seule phase de carbonate de sodium hydraté ($\text{Na}_2\text{CO}_3\cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Cette phase n'a été mise en évidence dans aucun autre diffractogramme, par contre, plusieurs spectres Raman ont confirmé sa présence dans les particules de poussières.

En plus des trois principales raies d'intensité 100 %, 75 % et 50 % ; l'échantillon **8** a montré que ses nombreuses distances interréticulaires sont en bon accord avec celles de la fiche ASTM 15-0800 du $\text{Na}_2\text{CO}_3\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (Tableau VI-16). L'écart des distances ne dépassant pas 3,6 %.

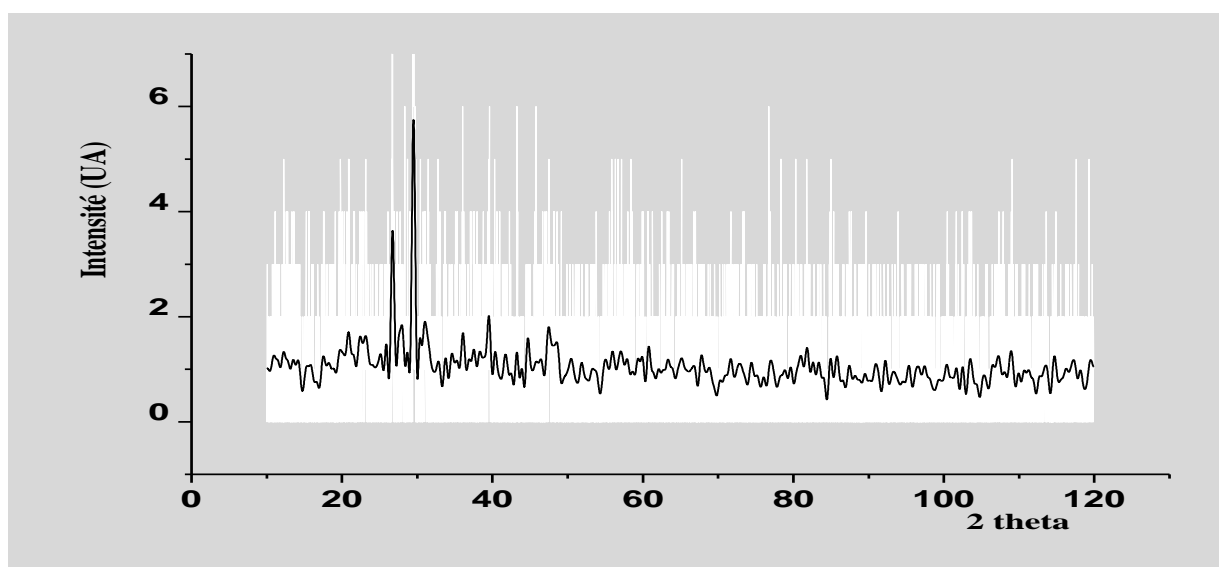


Figure VI-8 : Diagramme de diffraction RX de l'échantillon **8** des poussières prélevées sur les feuilles de *Cupressus sempervirens* en S5

Le plomb est un métal lourd très redoutable pour la cellule vivante. On peut le retrouver dans le ciment et les rejets de cimenteries sans qu'il soit un constituant du ciment ni du klinker. Il est rajouté comme additif avec d'autres métaux, depuis des décennies dans le ciment, car les cimentiers constatent une amélioration de l'hydratation du ciment lors de sa manipulation en y ajoutant des métaux lourds. Asavapisit et al., (1997) ont comparé l'effet de l'addition de 10 % d'hydroxydes de Pb, Zn et Cd pour l'amélioration de l'hydratation du ciment Portland et ont confirmé leurs résultats par de nombreux essais.

Les associations chimiques sont supposées être semblables ou similaires entre les échantillons rassemblés dans un même site de prélèvement, ce qui n'est pas vérifié dans ce travail et ce qui peut être dû aux caractéristiques du végétal. Mais Étonnamment, les travaux de Dappe et al., (2015) montrent que les taux d'accumulation en métaux sont identiques dans les feuilles traitées et non traitées par des métaux. La concentration en cires épicuticulaires n'aurait apparemment pas d'influence sur la fixation et l'accumulation des métaux dans des végétaux exposés.

L'analyse élémentaire performée, utilisant la spectroscopie Raman et la diffraction des rayons X, a mis en évidence plusieurs des constituants et dérivés du ciment et du clinker dans les poussières.

Tableau VI-16 : Distances interréticulaires de l'échantillon **8** et celles du carbonate de sodium $\text{Na}_2\text{CO}_3-10\text{H}_2\text{O}$ (15-0800) et leurs écarts.

| Natron ($\text{Na}_2\text{CO}_3-10\text{H}_2\text{O}$) (15-0800) Syst. Monoclinique | | | |
|---|-------------------|------------|--------------|
| d_{mes} | d_{ASTM} | hkl | $ \Delta d $ |
| 4,4661 | 4,50 | 020 | 0,0339 |
| 4,2262 | 4,19 | 120 | 0,0362 |
| 3,8495 | 3,826 | 311 | 0,0235 |
| 3,3513 | 3,366 | 202 | 0,0147 |
| 3,1453 | 3,143 | 204 | 0,0023 |
| 3,0362 | 3,036 | 322 | 0,002 |
| 2,9289 | 2,916 | 320 | 0,0129 |
| 2,8346 | 2,835 | 004 | 0,0004 |
| 2,7165 | 2,710 | 132 | 0,0065 |
| 2,4882 | 2,477 | 132 | 0,0112 |
| 2,2729 | 2,278 | 514 | 0,0051 |
| 2,2364 | 2,225 | 510 | 0,0114 |
| 2,0966 | 2,086 | 206 | 0,0106 |
| 1,9744 | 1,971 | 224 | 0,0034 |
| 1,9072 | 1,913 | 622 | 0,0058 |

Les résultats de ces analyses ont prouvé que la vaste surface de la zone d'étude est le récepteur final d'une importante partie des éléments polluants découlant des établissements industriels, surtout l'industrie du ciment par leur remarquable dispersion, par exemple des particules renfermant du gypse ont été récupérées au niveau de la station témoin (S1).

On constate, de ce fait, la présence de gypse ou sulfate de calcium dihydraté ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans la poussière recueillie sur le feuillage de *Pinus halepensis* de S3 (Figure VI-1), de *Cupressus sempervirens* en S3 (Figure VI-2), par exemple.

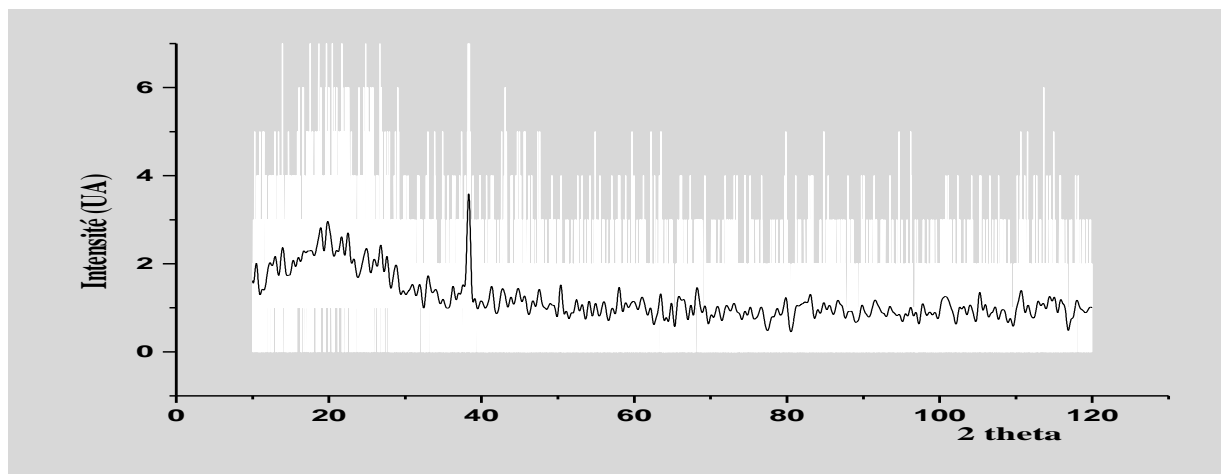


Figure VI-9 : Diagramme de diffraction RX de l'échantillon des poussières collectées sur les verticilles de *Cupressus sempervirens* en S1

Les procédures physiques d'identification qualitative ont fourni des évidences concernant les formes d'association chimiques des minéraux présents dans les poussières et indirectement, une idée sur leur mobilité et biodisponibilité pour les végétaux.

La DRX, efficace pour l'identification des sulfates, et probablement moins sensible aux interférences potentielles et à la taille des particules, paraît moins adaptée pour la détection des différents carbonates, contrairement à la spectroscopie Raman.

Chapitre VII

Résultats et discussion des analyses biochimiques

VII.1. Contribution des variations morphologiques au dépérissement forestier

De toutes les parties de la plantes, la feuille est la partie la plus sensible aux polluants de l'air et aux multiples facteurs externes. Les plantes offrent donc une énorme surface foliaire servant à absorber, accumuler et adsorber les polluants pour en réduire dans l'atmosphère (Chauhan et Joshi, 2010).

Dans les stations S2 et S3, les poussières de la cimenterie et des bords de routes ainsi que les hydrocarbures d'échappement des véhicules principalement en S5, se déposent et adhèrent fortement aux surfaces foliaires, ce qui les rend très difficiles à éliminer au cours de l'utilisation des feuilles dans l'expérimentation. Ces dépôts ont un effet sur la photosynthèse et sur la respiration en colmatant les stomates (Laitat, 1990), chez toutes les espèces étudiées. Nithamathi (2005) rapporte que, lorsque les plantes sont exposées à la pollution environnementale au-dessus de la plage physiologiquement acceptable, la photosynthèse est inactivée.

Les effets de la pollution relient la réponse physiologique des plantes à l'accélération du processus de sénescence. Une des manifestations évidentes de la sénescence des plantes est la disparition graduelle de la chlorophylle, associée au jaunissement des feuilles qui pouvant être lié à une baisse conséquente de la capacité de photosynthèse (Mandal and Mukherji, 2000).

La figure VII-1 montre clairement une différence de couleur des rameaux avec des taches brunes sous forme de chloroses, très visibles après plusieurs lavages consécutifs aux acides des feuilles et élimination des poussières, sur différentes parties du limbe des aiguilles relatives au rameau provenant de la station S2.

Les aiguilles provenant des arbres de ces mêmes stations se détachent facilement de leurs pétioles, contrairement à celles provenant des stations S1 et S4 où la résistance à l'arrachement est plus importante, on distingue bien que les rameaux ne sont plus aussi fournis qu'en S1 (Figure VII-1 a et b). Les changements dans les caractéristiques morphologiques, pigments photosynthétiques et le rendement de plants de blé et de la

moutarde correspondent directement aux niveaux de pollution de l'air sur différents sites (Chauhan and Joshi, 2010).

Des niveaux excessifs d'ions métalliques dans les plantes peuvent provoquer diverses réactions au stress et/ou des événements parallèles ou consécutifs se manifestant extérieurement par des symptômes visibles tels que l'inhibition de la croissance, les dommages au niveau des racines ou des chloroses (Pavlikova et al., 2008).



a. verticils de *Cupressus* collectés en S2



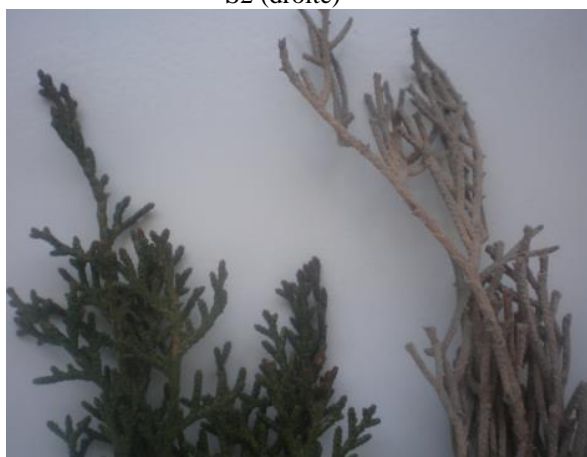
b. verticils de *Cupressus sempervirens* collectés en S2 (haut) et S1 (bas)



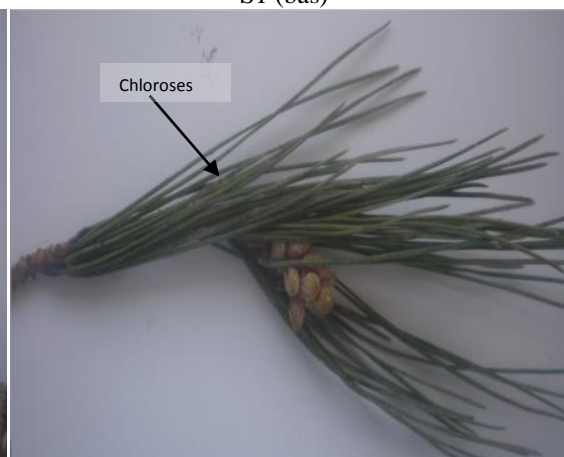
c. Aiguilles de *Pinus* collectées en S1 (gauche) et S2 (droite)



d. verticils de *Cupressus* collectés en S3 (haut) et en S1 (bas)



e. Région apicale de branches de cyprès collectés en S1 (gauche) et S2 (droite)



f. Chloroses sur aiguilles de *Pinus halepensis* collectées en S2

Figure VII-1: Aiguilles de *Pinus halepensis* et verticilles de *Cupressus sempervirens* L.

Les effets à retardement des polluants atmosphériques sur les écosystèmes forestiers peuvent persister plusieurs décennies, de sorte que, même si les émissions étaient rapidement contrôlées, les forêts ne réagiraient pas pleinement à la purification de l'atmosphère dans l'immédiat. C'est pourquoi le dépérissement réel a des chances d'être plus grave (Nilsson and Sallnäs, 1999).

Le Cyprès qui semble indifférent à la pollution par son aspect toujours vert, présente des dégâts morphologiques très visibles, suite à une exposition à un environnement de pollution permanent. Cette contamination du cyprès est révélée par un changement apparent de la couleur du feuillage et une croissance médiocre d'une année à l'autre; alors que ce Genre est caractérisé par une croissance rapide dans les conditions normales (Figure VII-2).

La chlorose et la pâleur des parties vertes de la plante, sont la réponse caractéristique de la pollution aux particules. Dans la chlorose, la couleur vert normal disparaît et les feuilles de la plante deviennent vert pâle, jaune ou même blanc. La nécrose désigne la mort des tissus ou des cellules isolées ou de la plante entière. Les contraintes de pollution plus douces, qui induisent en premier lieu une chlorose, peuvent finalement tuer la cellule ou la plante (Prusty et al., 2005).

Les symptômes visibles dans le feuillage de l'arbre peuvent donc être utilisés pour le diagnostic du stress une fois validé avec des analyses microscopiques. La différenciation des changements dans la physiologie des feuilles ou des aiguilles, le vieillissement, la sénescence, la sénescence cellulaire accélérée, la mort cellulaire et le stress oxydatif, fournissent des indices supplémentaires sur l'efficacité du diagnostic, surtout en conjuguant avec des informations sur la cible de l'agent de stress de l'arbre, feuilles et aiguilles, tissus, cellules et ultrastructure (Günthardt-Goerg and Vollenweider, 2007).

Les métaux lourds comme le cuivre et le zinc sont des constituants de nombreuses enzymes et protéines. Des concentrations élevées de métaux essentiels et non essentiels peuvent aboutir à l'inhibition de la croissance et les symptômes de la toxicité chez la plupart des plantes (Hall, 2002 ; Ducic and Polle, 2005).

On note des taches brunes, sous forme de chloroses, sur les différentes parties du limbe remarquées uniquement après lavages consécutifs des feuilles et élimination des poussières.



Figure VII-2 : Verticilles de Cyprès en provenance de la station S1 (a) et S2 (b).

En Algérie, le dépérissement spectaculaire des conifères, dans la région de Constantine, donne lieu à plusieurs hypothèses : la pollution particulaire par les dépôts de poussières de la cimenterie de Hamma Bouziane, la nature des éléments constitutifs des poussières (surtout les métaux), la pollution atmosphérique générée par le trafic et le parc automobile, associés à l'altération des surfaces foliaires, le défrichement et la détérioration du couvert végétal.

Le phénomène de dépérissement des cédraies a été signalé dans de nombreuses forêts algériennes, en particulier celle de Belezma, Chréa et Theniet El Had. Par exemple, la forêt de Théniet El Had s'est avérée être un cas complexe, où le dépérissement touche jusqu'à 20% des arbres. Les premières sénescences ont été signalées il y a environ 30 ans, mais les dépérissements semblent avoir pris une ampleur dramatique à partir de 1985 (Hacène et al., 1995). La persistance de cette situation de dégradation provoque des pertes économiques considérables tant au niveau de la productivité des cultures que sur le plan de la commercialisation des produits.

VII.2. Résultats des analyses biochimiques

Nous avons opté pour la même échelle dans la représentation graphique du même Genre, afin d'évaluer les variations dans les teneurs et d'estimer la différence dans les réponses des

espèces. L'ordre alphabétique (a, b, c, d et e) désigne la croissance des valeurs. Une même lettre correspond à des moyennes non significatives différentes.

La capacité de défense biochimique est un indicateur de la résistance potentielle au stress chez les arbres (Polle and Rennenberg, 1994 cités par Tegischer et al., 2002).

Généralement, le métabolisme de stress chez les plantes est étudié au cours d'expériences axées sur les effets à court terme des agents de stress, donc sous forme de stress aigu et dans des conditions de laboratoire. Cependant, cette forme de stress, ne reflète pas réellement les conditions environnementales et naturelles du milieu où, au contraire, les végétaux croissent et se développent dans des conditions de stress chroniques. Raison pour laquelle notre étude s'est concentrée sur un diagnostic des modifications impliquées dans leur métabolisme suite à un stress chronique induit par des polluants contenus dans la matière particulaire sédimentée sur le système foliaire, en milieu naturel. Les variations dans les caractéristiques biochimiques des pigments chlorophylliens des espèces végétales sélectionnées, exposées aux polluants de poussière de ciment sont données dans les figures VIII-3, 4, 5, 6 et 7. Les résultats obtenus sont comparés interspécifiquement et entre les deux campagnes de prélèvement.

VII.2.1. Teneurs en chlorophylles (Chl)

Le changement des teneurs en chlorophylles est un indicateur de stress (Naumann et al., 2008). Les concentrations foliaires de pigments, notamment la chlorophylle et les caroténoïdes, sont touchées par une variété de facteurs de stress (Carter, 1994). La diminution de la teneur en chlorophylles des feuilles peut servir d'indicateurs relatifs de la vigueur de la plante et la qualité de l'environnement (Carter and Spiering, 2002). Dans la végétation stressée, la teneur en chlorophylle foliaire diminue, changeant ainsi la proportion de pigments absorbant la lumière et affectant l'absorption globale (Zarco-Tejada et al., 2000).

Les teneurs élevées en ions métalliques chez les plantes peuvent causer différentes réponses aux stress. Parmi les nombreux polluants modernes qui interfèrent avec le métabolisme des plantes à différents stades, les métaux lourds sont les polluants non biodégradables les plus courants dans la littérature de par le monde (Mallick and Rai, 2001).

Les teneurs en chlorophylles des deux espèces considérées dans ce travail présentent de grandes variations d'un site de prélèvement à l'autre.

Les figures de ce chapitre affichent les teneurs en chlorophylles *a*, *b*, *a+b* et *a/b* des espèces considérées. Tous les résultats montrent que la station témoin (S1) révèle les teneurs les plus élevées, alors que la station S2, à proximité de la cimenterie, exprime les teneurs les plus faibles pour les espèces de conifères.

Quand les plantes montrent des variations dans leur caractéristiques physiologiques, ceci explique qu'il y a une baisse dans les concentrations des pigments chlorophylliens à cause de la grande pollution industrielle dans l'environnement, et les pigments photosynthétiques sont généralement les plus endommagés par la pollution de l'air (Giri et al., 2013).

Les différents groupes isolés par le test Student Newman Keuls, confirment les résultats avancés sur les figures où on note que les plus grandes valeurs ont été observées en station témoin (S1), au niveau de laquelle il y a une grande accumulation de la Chl totale. Contrairement à la station S2, où les plus faibles valeurs sont enregistrées.

Pour ces résineux, les teneurs en Chl totale au niveau de la station témoin (S1) sont de $25,64 \pm 0,18$ mg/g MF (cv = 0,70 %) chez *Cupressus sempervirens* ; et $68,03 \pm 0,30$ mg/g MF (cv=0,44 %) chez *Pinus halepensis*.

Aux niveaux des stations S2 et S3, les résultats de mesures des teneurs en Chl totale montrent qu'elles chutent considérablement. On note de ce fait $5,42 \pm 0,46$ mg/g MF chez *C. sempervirens*, ce qui représente le 1/5^{ème} de la teneur en S1 donc 21,13 %. Ce qui est également valable pour *Pinus halepensis* ($6,23 \pm 0,06$), représentant environ le 1/10^{ème} de sa teneur en S1, donc 59,17 % de réduction.

Les particules telles que les poussières de ciment, provoquent une nuisance à la respiration normale de la feuille ; une perturbation des mécanismes de la photosynthèse à l'intérieur de la feuille ; des chloroses et la mort des tissus foliaires par la combinaison d'une croûte épaisse et de la toxicité alcaline produite par temps humide. Les éléments émis se fixent sur les sites chargés extracellulaires (pariétaux et membranaires, généralement des groupes carboxyliques) (Ramade, 2005).

L'exposition des feuilles aux polluants provoque une réduction de la concentration de leurs pigments photosynthétiques, à savoir la chlorophylle et les caroténoïdes, ce qui affecte la

productivité des plantes, la germination des graines, la longueur des pédicules et le nombre de fleurs inflorescentes (Nithamathi et al., 2005).

Pour Na_2SO_4 et NaCl , le comportement différentiel peut être attribué aux anions sulfates ou chlorure et il est évident à partir des observations que l'ion sulfate exerce des effets plus nocifs que les ions chlorure sur des paramètres physiologiques et biochimiques (Desai et al., 2012).

VII.2.1.1. Teneurs en chlorophylles chez *Cupressus sempervirens* L.

La réduction observée dans les résultats de ce travail varie d'environ 78 % en S2 pour *Cupressus sempervirens* (figure VII-3 et VII-4). La teneur en chlorophylle diminue avec l'augmentation des dépôts de poussière. Il y a cependant une corrélation négative entre les dépôts de poussière et les teneurs en chlorophylles. L'interception de la poussière et son accumulation dans différentes espèces de plantes dépend non seulement des sources et quantité de polluants dans l'environnement, mais également des caractères morphologiques des plantes comme la taille des feuilles, la texture, la longueur du pétiole et les conditions météorologiques et direction du vent (Prajapati and Tripathi, 2008).

Le cyprès est un arbre dont les feuilles possèdent un pétiole court et des verticilles rugueux, ce qui favorise les dépôts de poussières sur le système foliaire. Selon Prusty et al., (2005), un pétiole court réduit les mouvements des feuilles pendant les vents tout comme un arbre court. Et l'accumulation des poussières a un effet sur la dynamique de tous les pigments foliaires.

Il est bien établi par les travaux de plusieurs auteurs, dont Prusty et al., (2005), que le contenu en pigments chlorophylliens et caroténoïdes présentent des variations dépendant des dépôts de poussières. La réduction du contenu chlorophyllien dans les feuilles exposées peut être attribué aux conditions d'alcalinité développée par la solubilisation des molécules chimiques contenues dans les particules de poussière, dans la cellule, et qui sont responsables de la dégradation de la chlorophylle et des enzymes impliquées dans sa biosynthèse.

Nous pouvons dire qu'au niveau des stations S2, S3 et S5, la réduction de la teneur en chlorophylle totale est due à une exposition à une source de pollution accrue suite à l'exposition à différents polluants. Ces teneurs diminuent légèrement en S4 chez *Cupressus sempervirens* atteignant $26,39 \pm 0,11$ mg/g MF et $51,45 \pm 0,68$ chez *Pinus halepensis*.

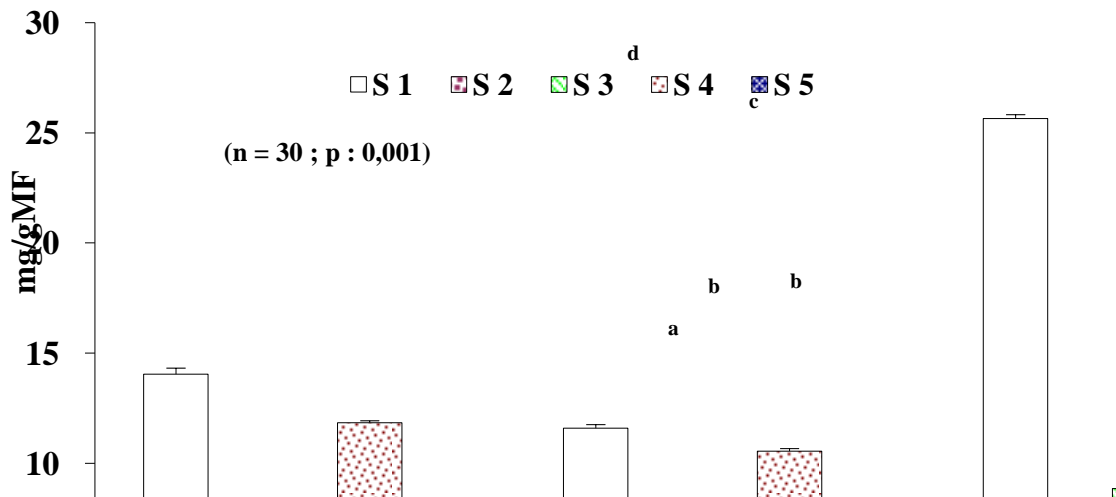


Figure VII-3 : Teneurs en chlorophylles chez *Cupressus sempervirens* (1^{ère} série).

La teneur en chlorophylle décline significativement en réponse aux polluants de l'air pour les végétaux exposés. Les changements des concentrations en chlorophylle chez les végétaux reflètent les niveaux de pollution de l'air ambiant auquel ils sont exposés. Les polluants de l'air contribuent à la réduction de la synthèse des chlorophylles en parallèle à une augmentation de sa dégradation, constituant ainsi un indicateur de la pollution de l'air (Chauhan et Joshi, 2010).

L'appareil photosynthétique, surtout le photosystème II (PSII), peut temporairement être affecté par les stress environnementaux avant que des dommages morphologiques irréversibles ne soient observés (Naumann et al., 2008).

La végétation soumise au stress peut subir diverses perturbations physiologiques dans les réactions de la lumière au cours de la photosynthèse, y compris l'interruption du transfert des électrons, la production de dérivés nocifs de l'oxygène, le photo-blanchiment, la réorganisation des pigments et les dommages structuraux aux chlorophylles (Zarco-Tejada et al., 2002).

Dans la station témoin (S1), les teneurs en chl **b** présentent une variation substantielle entre ces deux espèces : $11,59 \pm 0,27$ mg/g MF pour *Cupressus sempervirens* et $19,70 \pm 0,69$ mg/g MF pour *Pinus halepensis*. Par contre, au niveau des stations S2 et S5, les teneurs en chl **b** ne diffèrent que légèrement aussi bien chez le genre *Cupressus* que chez les genres *Pinus*.

Par conséquent, *C. sempervirens* pourrait être considéré comme une espèce plus résistante à la pollution que *Pinus halepensis*.

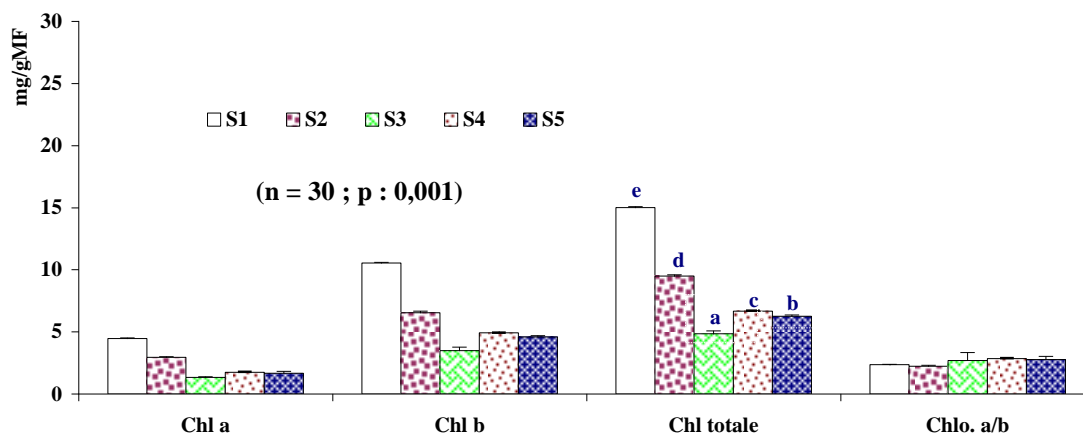


Figure VII-4: Teneurs en chlorophylles chez *Cupressus sempervirens* (2^{ème} série).

L'analyse de la variance pour le paramètre chlorophylle totale chez le genre *Cupressus* a révélé des différences très hautement significatives aussi bien pour la 1^{ère} série que pour la seconde, quelle que soit la station considérée pour $\alpha = 0,001$ et $P \leq 0,0001$, témoignant d'une variabilité inter-station puisque le test **F** (5937,689 pour la 1^{ère} série et 3614,472 pour la seconde) est dans la partie 99,9 % supérieure de la distribution de Fisher ; l'hypothèse d'égalité des moyennes des stations est rejetée.

Le test SNK pour la 1^{ère} série dégage 4 grands groupes où les stations S3 et S5 sont affectées au groupe **b**, enregistrant les valeurs intermédiaires des teneurs en Chl totale, suivies des stations S4 et S1 où on enregistre les plus fortes moyennes et affectées respectivement aux groupes **c** et **d**, en fin la station S2 qui affiche la plus faible valeur en étant affectée au groupe **a** (Figure VII-3).

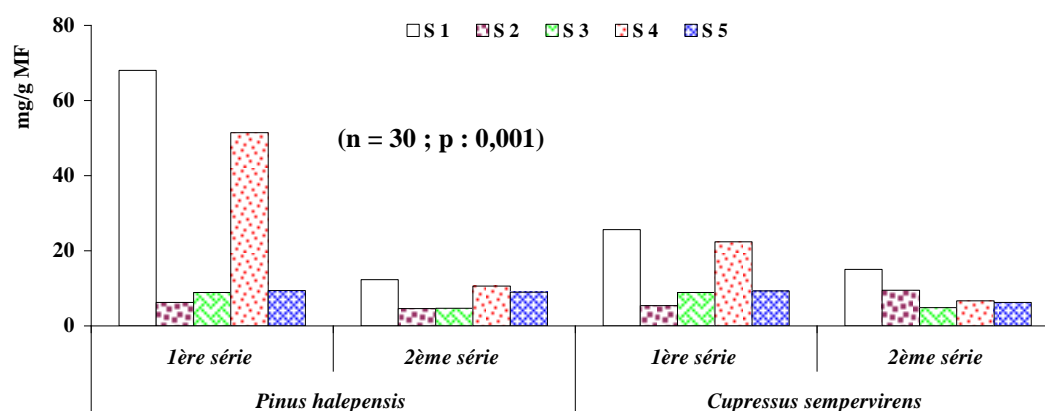


Figure VII-5 : Variation des teneurs en Chlorophylles.

Tandis que pour la seconde série, le test SNK révèle le dégagement de **5** groupes distincts indiquant l'existence de différences inter-stations avec un maximum relevé au niveau de la station S1 en étant attribué au groupe **e** et un minimum enregistré au niveau de S3, affecté au groupe **a** au seuil $\alpha = 0,001$.

VII.2.1.2. Teneurs en chlorophylles chez *Pinus halepensis* Mill.

Les estimations de la teneur en Chl pour *Pinus halepensis* au cours de la 1^{ère} série témoignent d'une grande diversité inter-stations et d'une variabilité intraspécifique importante. La teneur en Chl totale présente des variations quand l'espèce est soumise à une forme de pollution et varie de 90,84 % pour *Pinus halepensis* (Figure VIII-6 et VIII-7). En effet, on observe une forte concentration au niveau de la station témoin ($68,03 \pm 0,30$) ; valeur sensiblement proche de celle enregistrée en S4 avec $51,45 \pm 0,68$.

A l'opposé, on remarque que le comportement du pin vis-à-vis de la pollution semble très différent avec les fluctuations du milieu considéré et c'est en S2 qu'on note une baisse très importante de la teneur en Chl avec la plus faible teneur ($6,23 \pm 0,06$ mg/g MF) et où le taux de baisse est estimé à 90,84 %. Entre ces deux limites se trouvent les valeurs, considérées comme assez faibles, observées en S3 et S5 où le taux de baisse va de 13,08 à 13,58 % ; se traduisant par des valeurs assez proches de l'ordre de $8,90 \pm 0,02$ mg/g MF et $9,24 \pm 0,07$ (Figure VIII-6) dans les échantillons de feuilles provenant de ces sites pollués.

Les teneurs en Chl **a** restent relativement supérieures à celles en Chl **b** au niveau des stations considérées polluées (S2, S3 et S5). De plus le rapport **a/b** est toujours légèrement supérieur à 0 ; ceci se traduit par la faible adaptation de la plante au stress en dépit de la teneur en Chl totale (Pääkkönen et al., 1999). La teneur en chlorophylle a+b est un indicateur potentiel de stress de la végétation en raison de son rôle direct dans les processus photosynthétiques de l'absorption de la lumière et l'initiation du transport d'électrons et sa réactivité aux stress (Zarco-Tejada et al., 2002).

L'anova révèle une différence inter-stations hautement significative pour le paramètre Chl totale chez le Pin d'Alep ($F = 29580,735$), en réponse au stress induit par les rejets particuliers. Par ailleurs, le test SNK confirme les résultats avancés sur l'histogramme de la Figure V-7 en isolant 4 groupes distincts à $\alpha = 0,001$, où on remarque que la teneur en Chl enregistrée en S1 est classée au dernier groupe **d** en affichant le taux le plus important. Puis,

on note au groupe **c** la valeur enregistrée en S4. Il reste remarquable que le groupe **b** regroupe les teneurs enregistrées en S3 et S5 et qui ne révèlent aucune signification, $P \leq 0,0001$). Par contre, une valeur minimale est enregistrée en S2 et affectée au premier groupe **a**.

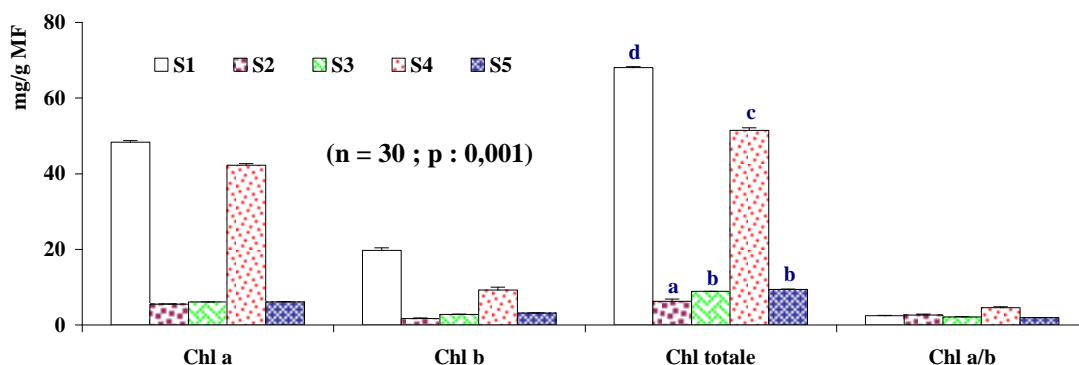


Figure VII-6 : teneurs en chlorophylles chez *Pinus halepensis* (1^{ère} série).

Pour ce qui est de la 2^{ème} série, le Pin affiche un comportement analogue à celui remarqué dans la 1^{ère} série pour ce paramètre en accusant la teneur la plus élevée ($12,27 \pm 0,03$ mg/g MF) en S1, des valeurs intermédiaires en S4 et S5, respectivement $10,63 \pm 0,04$ et $8,94 \pm 0,05$ mg/g MF puis en S3 où la valeur est de l'ordre de $4,73 \pm 0,09$ et un minimum d'accumulation en S2 avec $4,63 \pm 0,01$ (Figure VII-7). Pour ce paramètre, l'analyse de la variance a révélé des différences très hautement significatives avec $F = 2207,233$.

Ces résultats sont appuyés par le test SNK au seuil $\alpha = 0,001$ où la séparation des groupes homogènes a dégagé uniquement 4 groupes, révélant l'existence de différences significatives dans le comportement du pin vis à vis du facteur station en réponse aux contraintes du milieu ; avec un maximum relevé au niveau de S1, affectée au dernier groupe **d** et un minimum d'accumulation enregistré en S2 et S3 rassemblées et affectée au même premier groupe **a**. Les stations S4 et S5 forment les groupes intermédiaires **b** et **c** où l'accumulation est modérée avec des moyennes générales de l'ordre de 10,63 et 8,94 respectivement et un taux d'accumulation médiocre affecté au groupe **a** avec une moyenne de 4,65 de la station S2 et 4,73 en S3 (Figure VII-7).

Les spécimens de pin utilisés au cours des prélèvements montrant les plus faibles teneurs en Chl enregistrées en S2, S3 et S5, présentent des chloroses et des nécroses remarquables, particulièrement sur les extrémités des aiguilles.

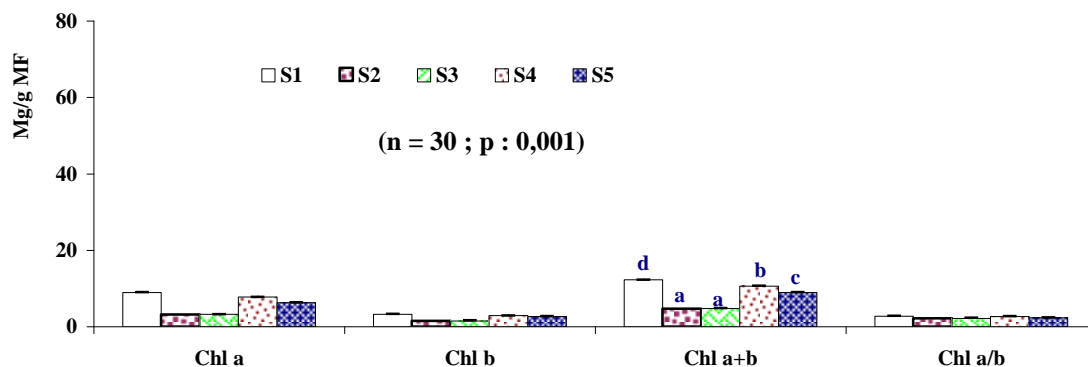


Figure VII-7 : Teneurs en chlorophylles chez *Pinus halepensis* (2^{ème} série).

De plus, ces résultats révèlent une différence significative entre les stations à avoir une meilleure assimilation chlorophyllienne et une élaboration de la matière organique. Ces observations concordent avec celles de Wulff et al. (1996) qui ont soumis une espèce de Pin (*Pinus sylvestris*) à des doses chroniques d’ozone dans le but d’estimer les degrés de nécroses et de chloroses observées sur les aiguilles.

Ceci mène à déduire que la station S2 est la plus soumise à la pollution par les dépôts de poussières. Il faudrait un fort pluviollessivage pour éliminer ces dépôts et favoriser une régénération de la biosynthèse des chlorophylles, pour assurer le dégagement d’une plus grande surface foliaire et une meilleure assimilation chlorophyllienne.

Les symptômes initiaux des stress environnementaux se manifestent souvent par des réductions du taux de photosynthèse. Par conséquent, évaluer l’intégrité de l’appareil photosynthétique conduisant le processus photosynthétique fournit un système de diagnostic rapide et non destructif de la détection et la quantification de la tolérance des plantes aux stress environnementaux (Percival et Fraser, 2001).

Ce taux est jugé important si on considère le rôle qu’ils pourraient jouer dans la dépollution et la purification de l’air dans la région étudiée, il peut également renseigner sur l’ampleur de l’impact des dépôts de poussières sur la synthèse des Chlorophylles et par conséquent sur la photosynthèse.

A la lumière de ces résultats, la Chlorophylle serait un bon indicateur de l’effet de la pollution atmosphérique. Et l’effet de la pollution particulaire sur l’accumulation de la Chl totale provoque une diminution dans le taux de sa biosynthèse qui va souvent de paire avec la

diminution de la synthèse de la proline : ces deux phénomènes n'assurent pas une bonne régulation de l'assimilation chlorophyllienne ni de l'élaboration de la matière organique donc la croissance des espèces, entraînant des pertes de rendement des essences.

Les faibles teneurs en chlorophylles observées au niveau des stations affectées par ce type de pollution impliquent que la réduction des concentrations de ce métabolite est importante. En d'autres termes, les quantités de poussières rejetées par la cimenterie et véhiculées sur de larges distances provoquent une forte perturbation de la synthèse de la chlorophylle et se traduisent par un ralentissement métabolique des différents processus biologiques.

L'Anova montre que le facteur Station explique à 100 % la variation de la teneur en Chl totale. Cela signifie que si chaque observation est prédite à partir de la moyenne de sa station, la somme des carrés des erreurs est de 100 % inférieure à celle obtenue en prédisant chaque observation à partir seulement de la moyenne des 5 stations (qui est de 20), ce qui explique que la différence est très hautement significative.

La réponse sélective des feuilles aux poussières peut être utilisée pour la surveillance de la pollution atmosphérique (Prusty et al., 2005). La quasi-totalité des résultats montre que la station S1 révèle les teneurs les plus élevées, alors que la station S2 révèle les teneurs les plus faibles, ce qui pourrait s'expliquer par une dégradation des chlorophylles par dégénérescence des chloroplastes, ou sa transformation en phéophytine (Giri et al., 2013), fait remarqué à l'aspect endurci et la décoloration de la feuille. Il est à noter que la teneur en Chl *a* constitue dans la plupart des cas le double de celle en Chl *b*. Ceci pourrait s'expliquer par la résistance des espèces qui fournissent alors un effort supplémentaire pour survivre à la pollution tout en gardant des teneurs minima de l'assimilation photosynthétique et/ou en puisant dans leurs réserves.

Chez les plantes supérieures, la biosynthèse de la chlorophylle est inhibée par les métaux lourds. Ceux-ci affectent deux enzymes connues par être très sensibles aux métaux lourds (l'acide δ -aminolaevulinique déshydratase et la protochlorophyllide reductase) qui jouent un rôle capital dans la synthèse de la chlorophylle (Van Assche and Cligsters, 1990). D'après Zayed et al., (1991), les conifères sont souvent considérés être les meilleurs bio-indicateurs temporaires d'une contamination de l'environnement, car leur qualité de bois réduit le transfert latéral des polluants à travers les anneaux.

La couche de cire épicuticulaire est une caractéristique qui permet aux conifères de survivre aux conditions défavorables, à savoir la sécheresse temporaire, la pollution atmosphérique, le vent, les hautes températures et les fortes radiations (Kinnunen et al., 1999). La surface de l'écorce du pin est très poreuse et l'absence de processus métaboliques la rend presque inerte pour les substances organiques et inorganiques (Schulz et al., 1999). Ce qui laisse supposer que cette particularité physiomorphologique est responsable de leur résistance apparente à la pollution du milieu, comparés aux autres essences.

Les effets de la pollution sont liés à la réponse physiologique des plantes par accélération de leur sénescence, ainsi, la première manifestation de ce phénomène est la disparition graduelle des chlorophylles associée au jaunissement des feuilles, lié à un déclin conséquent de la capacité photosynthétique. Cette réponse de la plante peut être utilisée dans la biosurveillance (Prusty et al., 2005).

VII.2.2. Teneurs en Proline (Prl)

VII.2.2.1. Teneurs en Proline *Cupressus sempervirens* L.

La Proline, considérée comme un osmorégulateur majeur chez les plantes soumises à diverses contraintes, est un osmolyte compatible très recherché, qui aide les plantes à contrer et à se remettre du stress salin (Kumar et al., 2010, cités par Desai, 2012).

Les deux conifères considérés se comportent approximativement de la même manière et présentent des tendances à avoir des teneurs en proline assez proches (Figure V-8), mais qui restent statistiquement significatives chez le cyprès, plus que dans le pin.

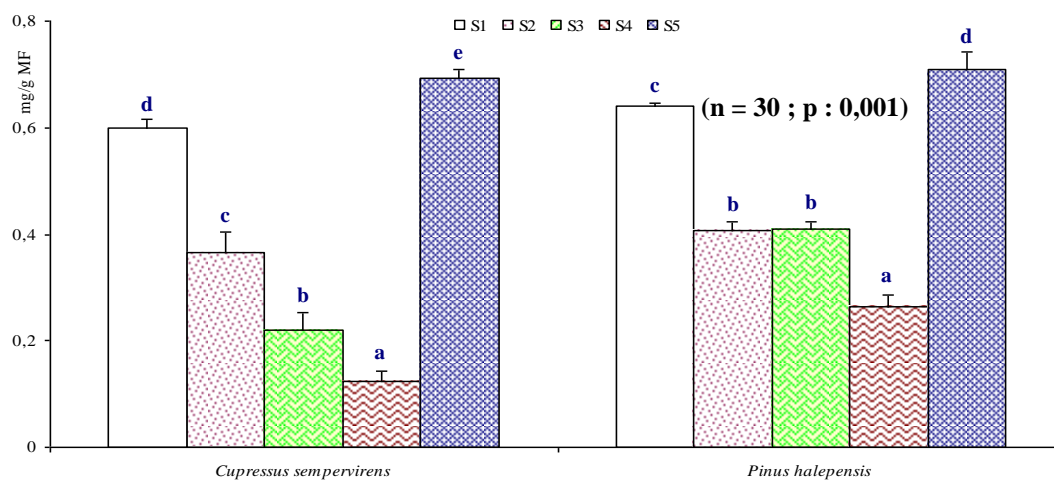


Figure VII-8 : Teneurs en proline (1^{ère} série).

Au niveau des autres stations, S2 et S3, ont été relevées des teneurs modérées variant entre $0,36 \pm 0,06$ mg/g MF pour S2 et $0,21 \pm 0,03$ pour S3. La plus faible teneur fut celle observée en S4 pour la première série ($0,12 \pm 0,01$ mg/g MF). Bien que cette station soit, elle aussi, soumise à la pollution engendrée par les gaz d'échappement, cette faible teneur en proline pourrait s'expliquer par la dispersion assez forte des polluants, particulièrement les poussières, par les vents à cette altitude.

Une variabilité interspécifique a été observée vis à vis du facteur accumulation de la proline pour la station S5. En effet, le test de séparation des groupes homogènes par SNK au seuil $\alpha = 0,001$ révèle la distinction de 4 groupes différents, révélant ainsi l'existence de différences inter-stations avec un maximum enregistré au niveau de S1 affichant une moyenne générale de 1,46, attribuable au dernier groupe **d**. Par opposition aux deux minima calculés en S4 et S5 enregistrant les plus faibles valeurs de l'ordre de 0,28 et 0,31 et affectés au premier groupe **a**. Les valeurs de proline en S3 et S2 constituent les groupes intermédiaires **b** et **c** avec 0,45 et 0,77.

VII.2.2.2. *Pinus halepensis* Mill.

Pour la campagne 2000, les teneurs en proline mesurées en S5 sont les plus importantes avec ($0,70 \pm 0,03$ mg/g MF), valeur assez proche de celle observée en S1 ($0,64 \pm 0,005$ mg/g MF), à l'opposé de S4 où on a pu relever la teneur la plus faible ($0,26 \pm 0,02$ mg/g MF) (Figure VII-9).

C'est au niveau des stations S2 et S3 qu'on note un très faible taux de variabilité pour ce paramètre, vu que les aiguilles du pin au niveau de ces stations sont soumises à des dépôts de poussière comparables, engendrant la même réponse de la plante à ce type de stress abiotique. Ce fait a été remarqué également pour les mesures effectuées une année plus tard au cours de la 2^{ème} série (Figure VII-9), où on constate que le pin se comporte approximativement de la même manière au niveau des stations considérées comme les plus polluées, à savoir : S2, S3 et S5 ($0,63 \pm 0,01$ mg/g MF) ; ($0,58 \pm 0,01$ mg/g MF) et ($0,58 \pm 0,01$ mg/g MF). Les stations S1 et S4 ont affiché des teneurs assez proches et qui tendent à être peu élevées en S4 avec respectivement $0,91 \pm 0,06$ mg/g MF et $0,99 \pm 0,01$ mg/g MF.

L'Anova révèle des différences inter stations hautement significatives ($F = 291,308$ et $P \leq 0,001$). En effet, on note que le test SNK isole 4 groupes à $\alpha = 0,001$. L'espèce accumulant le

taux de proline le plus élevé est relevé au niveau de la station S5 avec une moyenne générale égale à 0,708 et attribuable au dernier groupe (**d**). Une fois de plus, ce résultat nous permettrait d'avancer l'hypothèse selon laquelle les rejets d'hydrocarbures influencent la biosynthèse de la Prl. Contrairement au premier groupe (**a**) qui distingue le pin au niveau de S4 qui affiche la plus faible teneur (0,262).

Mise à part la différence non significative signalée entre les teneurs en S2 et S3 ($P = 0,771$) et qui appartiennent au même groupe (**b**) avec des valeurs allant de 0,406 à 0,410 ; on note que la concentration en S1 est attribuée au groupe **c** avec 0,641.

Pour la série 2, aucune différence significative n'a été observée avec le test de l'Anova ou de NK avec $F = 1,720$ et $P = 0,198$ à $\alpha = 0,05$, toutes les concentrations sont assignées au même groupe. Les valeurs d'accumulation de proline dans les aiguilles du Pin dans toutes les stations sont de ce fait superposées dans un même groupe. Borkowski et al. (1995) ont mis en évidence l'augmentation de la teneur en proline dans les feuilles de tomate sous un déficit en Cu. Ce qui pourrait s'expliquer par les teneurs nulles en cet élément dans l'EDTA des aiguilles de *Pinus halepensis* en S5 (Figure VII-9).

A de faibles teneurs de Proline, les plantes révèlent des altérations morphologiques dans les feuilles et un défaut dans l'élongation de l'inflorescence (Sharma and Dietz, 2006). De nombreuses études confirment l'accumulation de teneurs élevées en proline chez différentes espèces sous conditions de stress hydrique ou salin (Lewin et al., 1978 ; Tan et al., 1981 ; Dib et al., 1992).

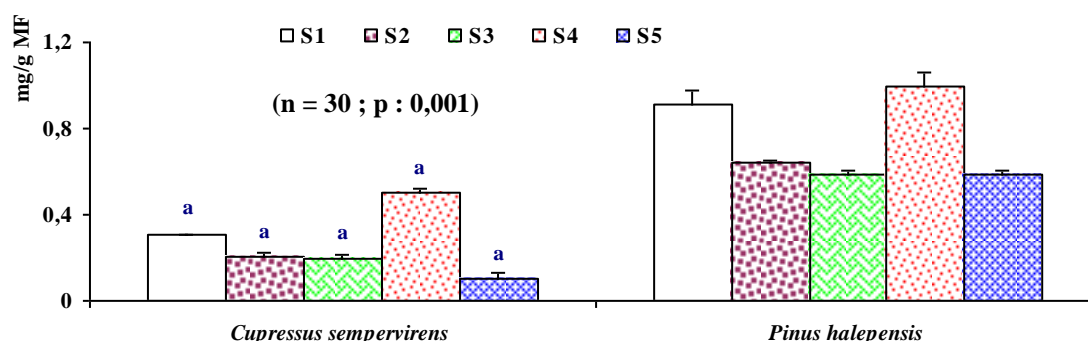


Figure VII-9 : Teneurs en proline (2^{ème} série)

Seulement, dans des conditions de pollution par les particules sédimentables, il semble que l'accumulation de la proline soit fortement inhibée et témoigne du phénomène inverse. Pour certains auteurs, comme Stines et al. (1999) le rôle de la proline libre dans le développement et le fonctionnement des différents organes de la plante demeure inconnu. De façon similaire, la régulation temporelle de la biosynthèse de la proline et son accumulation au cours du développement normal de la plante, en absence d'un stress abiotique est encore non élucidé. Les teneurs élevées de la proline dans les tissus et organes de plusieurs plantes, en absence d'un stress abiotique, soulèvent la question si l'accumulation de la proline durant un développement normal de la plante a lieu par activation de la voie de biosynthèse ou indépendamment de cette voie accomplie sous stress abiotique.

Selon Roosens et al. (1999), dans les plantes supérieures, l'enzyme Δ -pyrroline-5 carboxylate synthétase (Δ -P5CS) qui joue un rôle primordial et critique dans la synthèse de la proline est stimulée sous condition de stress hydrique ou salin. Il a été également établi que sous condition de non stress, la Δ -P5CS est inhibée par les concentrations élevées mêmes de la proline (Zhang et al., 1995). Ce qui n'est pas le cas pour notre approche.

Nous pourrions conclure ainsi que l'activité de cette enzyme est inhibée au cours de la réaction du précurseur de la proline (le glutamate) favorisant alors la formation de la glutamine. D'un autre côté, les travaux de Pavlikova et al. (2008) ont pu démontrer que dès qu'un déclin dans le taux de l'enzyme glutamate kinase est installé, ceci indique que la plante est en fin de période d'acclimatation au stress chronique induit par le cadmium et le zinc.

Bien que toutes les essences soient exposées à un climat de pollution, surtout au niveau des stations S2, S3 et S5, il n'existe pas une importante accumulation de la proline libre au niveau des feuilles. Cette teneur pourrait être due aux métaux déposés avec les poussières sur les feuilles. Les travaux de Weinstein et al. (1986) ont confirmé l'étroite et positive corrélation entre accumulation de polyamines et l'augmentation de la teneur en Cd^{2+} dans les tissus foliaires à une teneur de 1 ppm seulement.

En réponse au stress abiotique variés, plusieurs plantes accumulent des acides aminés ou leurs dérivés (Bagni, 1994). Pour Schwakee et al. (1999), la proline représente l'acide aminé libre le plus abondant dans le pollen de *Petunia* sous conditions de stress.

Bien que la sécheresse fût assez prononcée pendant les périodes de prélèvements, l'accumulation de la Proline est inférieure à sa teneur témoin, ce qui laisse supposer que ce métabolite peut constituer un indicateur de stress hydrique seulement quand le milieu ne subit pas de contraintes de pollution particulière. Voetberg and Sharp (1991) observaient déjà que la dégradation de la proline induit son accumulation.

Dans un autre sens, certains auteurs tels Sharma and Dietz, (2006) trouvent que lors de l'exposition aux métaux, les plantes synthétisent souvent un ensemble de divers métabolites qui s'accumulent aux concentrations de l'ordre de la millimole, en particulier des acides aminés spécifiques, tels que la proline et l'histidine, des peptides tels que le glutathion et les phytochélatines (PC). L'accent est donné à la proline qui paraît posséder une fonction unique non seulement en période de sécheresse et stress hydrique mais aussi un rôle dans le métabolisme des plantes stressées par des métaux.

La Proline, considérée comme un osmorégulateur majeur chez les plantes soumises à diverses contraintes et fortement sollicitée par la compatibilité osmolytique, aide les plantes à contrer le stress salin et à s'en remettre (Kümar et al., 2010).

Le procédé de dosage de la proline est réalisé pour estimer la teneur en cet acide aminé libre dans le cytoplasme, or comme démontré par certains auteurs, tels que Sharma et Dietz, (2006), la proline intervient dans le processus de réponse de la plante exposée à un stress métallique tel un chélateur de métaux "metal chelator" (Figure VII-10), c'est pour cela que les teneur en proline libre sont minimales. Donc, plus la proline est synthétisée, plus elle est utilisée dans le processus de chélation.

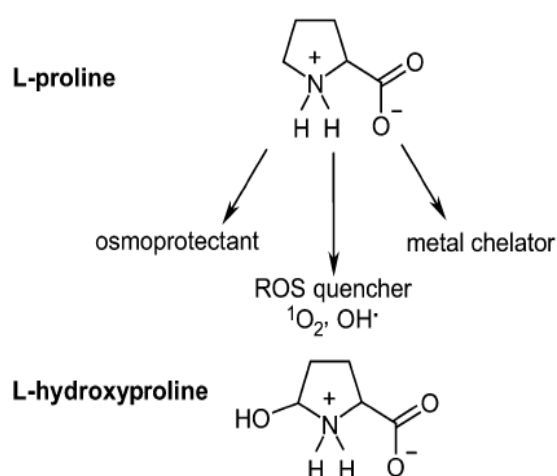


Figure VII-10 : Fonctions "schématisées" de l'acide aminé Proline (Sharma et Dietz, 2006).

a. Chélation des métaux dépendant de la proline : La possibilité de l'implication de la proline dans la chélation des ions métalliques est indiquée. Il a été démontré que la proline protège la Glucose-6-Phosphate déshydrogénase et la nitrate réductase *in vitro* de l'inhibition induite par le Cd contre le Zn. Les mesures avec l'électrode spécifique du Cd ont révélé que la protection enzymatique dépendant de la proline était basée sur une réduction de l'activité de dosage ionique du métal libre en raison de la formation d'un complexe de proline-Cd (Sharma et Dietz, 2006).

Le genre *Cupressus* est, par contre, très sensible à la pollution causée par la circulation accrue des véhicules, particulièrement au niveau des stations S2 et S5. *Pinus halepensis* est une espèce qui tolère faiblement le stress dû à la pollution par les dépôts de poussières en affichant les valeurs les plus faibles en proline au niveau des stations les plus polluées. C'est par conséquent l'espèce qui représente le moins de résistance à la toxicité par les poussières de la cimenterie.

Au vu des très faibles teneurs accumulées en proline, ce métabolite ne constitue pas un bon facteur de tolérance ou de résistance des espèces considérées aux contraintes provoquées par une pollution particulière ni par les hydrocarbures et les gaz d'échappement. Ces très faibles teneurs en proline peuvent indiquer que ce métabolite a pu servir, en se dégradant, de source disponible et rapide d'azote, de carbone ou d'équivalents réducteurs au cours d'un stress (Blum and Ebercom, 1976 cités par Hellmann et al., 2000).

Nous pourrions proposer de ce fait que l'accumulation de la proline chez les conifères ne joue pas un rôle significatif de réactions de défense, contre ces conditions de stress abiotique, qui serait orientée plutôt vers les autres solutés.

VII.2.3. Teneurs en sucres solubles

Les résultats d'analyse des sucres solubles montrent une accumulation assez variée entre les différentes stations pour chacune des essences.

VII.2.3.1. Teneurs en sucres solubles chez *Cupressus*

Pour la 1^{ère} série, on note que les teneurs en sucres solubles (Scr) sont sensiblement proches et ne présentent pas de variations prononcées entre la station témoin (S1) et celle considérée la plus soumise à la pollution particulière (S2) avec respectivement $274,97 \pm 7,43$ mg/g MF et

268,15 ± 2,70. On note cependant un maximum d'accumulation en S5 avec 453,27 ± 12,60 mg/g MF. Une teneur moyennement faible est trouvée en S4 avec une valeur de 223,27 ± 4,38 mg/g MF, tandis que la plus faible teneur fut relevée en S3 (176,52 ± 4,95 mg/g MF) (Figure VII- 11).

L'Anova pour le paramètre accumulation des sucres solubles a révélé des différences inter-stations hautement significatives à $P \leq 0,0001$, avec $F = 831,74$, quelque soit la station considérée ce qui explique les différences de comportement de *Cupressus sempervirens* d'un milieu à un autre.

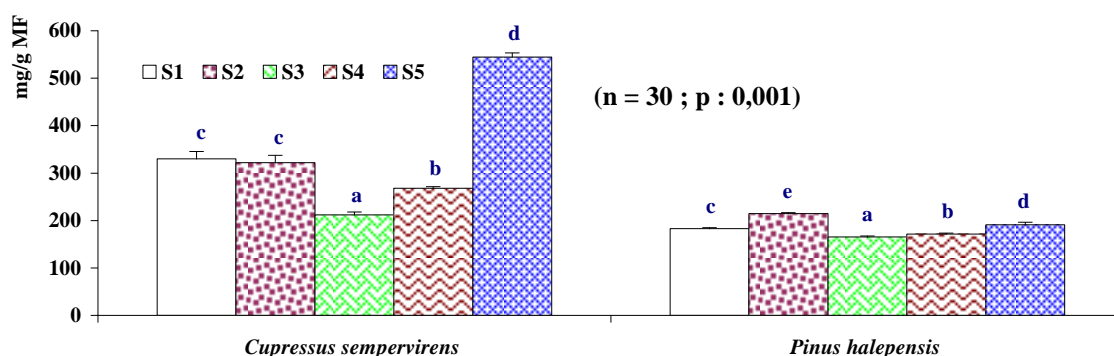


Figure VII-11 : Teneurs en sucres totaux (1^{ère} série).

Le test SNK confirmant le dégagement de quatre groupes distincts, au seuil $\alpha = 0,001$, laisse supposer que la pollution au niveau de S5 stimule la dégradation des réserves glucidiques en affichant la plus forte teneur, affectée à elle seule au dernier groupe **d**. Contrairement au premier groupe **a** qui regroupe la teneur relevée en S3 représentant la plus faible moyenne. Le groupe **b** est constitué de la valeur de la teneur en S4 et affiche une moyenne de, valeur suggérant que l'impact de la pollution y est moyennement élevé se traduisant par une adaptation de l'essence plus ou moins importante (taux de réserves n'est pas épuisé) par rapport à S3 (Figure VII-12).

Les concentrations relevées en S1 et S2 sont regroupées au groupe **c**, confirmant les résultats obtenus sur la Figure VII-10 et signifiant qu'il n'y a pas de différences significatives entre les teneurs dans ces deux stations ($P \leq 0,205$).

Les fortes concentrations enregistrées en sucres solubles en S5 indiquent une activation de la dégradation des réserves glucidiques ce qui suggère une adaptation de la plante aux contraintes de la pollution par les gaz d'échappement au risque de provoquer un épuisement des réserves surtout qu'à ce niveau il a été remarqué un taux de baisse de la teneur en chlorophylle se traduisant par une faible élaboration de la matière organique, principalement les glucides.

Contrairement aux faibles teneurs enregistrées qui impliquent une inhibition de la dégradation des sucres donc une adaptation médiocre au climat de pollution avec une conservation des réserves. Une simple comparaison entre les Figures VII-11 et VII-8, pour *Cupressus sempervirens* laisse supposer que cette espèce accumule plus de proline et de sucres au niveau de S5, ce qui montre que ces deux métabolites pourraient être influencés par les rejets d'échappement. Ces résultats sont en bon accord avec la littérature, en effet, Massantini et al. (1990) précisent que sous stress métallique, les plantes accumulent des teneurs en sucres solubles supérieures à 35,5 % de plus que dans les témoins.

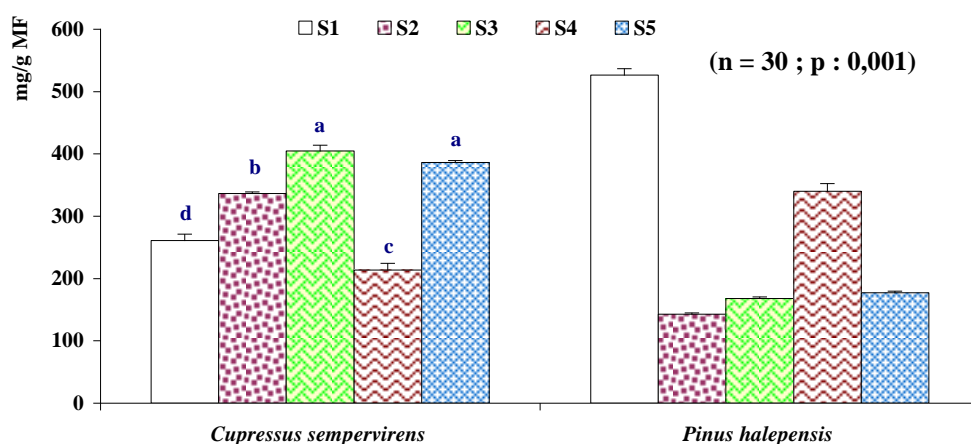


Figure VII-12 : Teneurs en sucres solubles (2^{ème} série).

VII.2.3.1. Teneurs en sucres solubles chez *Pinus halepensis* Mill.

Pinus halepensis ne se comporte pas de la même manière sous les différentes contraintes des stations considérées. Cependant, il a des tendances à avoir les teneurs les plus élevées en sucres au niveau de la station à proximité de la cimenterie (S2) pour la 1^{ère} série avec une moyenne de $214,36 \pm 2,08$ mg/g MF (Figure VII-11). Contrairement à la 2^{ème} série où cette même station a témoigné de la plus faible moyenne ($142,90 \pm 1,99$ mg/g MF) (Figure VII-12), alors que la valeur maximale est enregistrée au niveau de S1 ($526,33 \pm 10,63$ mg/g MF).

Les fortes teneurs en sucres solubles en S5 chez *Cupressus sempervirens* (Figure VII-11) laissent supposer qu'à ce niveau la pollution agirait de deux manières différentes : soit qu'elle inhibe l'activité de la dégradation des réserves glucidiques ou que *Cupressus sempervirens* n'est plus en mesure d'élaborer des réserves lui permettant de s'adapter au climat de pollution, ce qui appuie l'hypothèse de dépérissement que subissent les conifères dans la région. Larher et al. (1993) cités par Hellmann et al., (2000) ont montré qu'une augmentation spécifique de la Prl est induite par un apport de sucres métabolisables.

Les cellules végétales peuvent adapter leur métabolisme aux conditions de pollution en dégradant des sucres. Une concentration élevée en sucres suggère un bon métabolisme comme les basses teneurs peuvent indiquer un imminent manque (Loretti et al., 2001). Selon Heineke et al. (1992), les concentrations élevées en sucres solubles sont proportionnelles au contenu prolinique cellulaire. Dans notre cas, cette affirmation n'est pas vérifiée puisque les teneurs en proline et en sucres solubles sont très indépendantes dans les tests statistiques.

La photosynthèse étant un processus physiologique sensible et hautement susceptible aux stress abiotiques, les changements de teneurs en glucides, à la suite d'une exposition à un stress, peuvent être dans une large mesure, causés par une baisse du taux de photosynthèse - qui est un processus physiologique très sensible aux contraintes abiotiques-, auquel cas ces changements de teneurs ne concernent pas le mécanisme de défense au stress lui-même (Rejskova et al., 2007).

En se basant sur les réactions métaboliques, comme la baisse observée des teneurs en chlorophylle, en proline et en sucres solubles, par rapport à la station témoin (S1), le stress et le dépérissement des conifères dans la zone d'étude paraissent bien évidents avec des signes de dommages dans la partie aérienne des arbres.

VII.2.4. Analyses en composantes principales pour les paramètres biochimiques

VII.2.4.1. Matrice de corrélations

La matrice des corrélations (Tableau VII-1) renferme les valeurs des coefficients linéaires entre deux variables. Le seuil de signification retenu à $\alpha = 99,9 \%$ est de 0,56 ($p \leq 0,0001$).

Tableau VII-1 : Matrice des corrélations des différentes variables biochimiques analysées

| Variables | Chl | Prl | Scr |
|---------------------------|-----------------------------|-------|-------|
| Chlorophylle (Chl) | 1,000 | | |
| Proline (Prl) | 0,605***(P<0,001) | 1,000 | |
| Sucres (Scr) | 0,051 | 0,202 | 1,000 |

Les variables Chl et Prl sont significativement et positivement corrélées entre elles. Et il n’y a pas de corrélation significative entre les variables Chl/Scr et Prl/Scr (Tableau VII-1).

VII.2.4.2. Les corrélations

Le plan 1 – 2, dont la participation des axes orthogonaux est de 87,50 %, fait ressortir deux des trois variables biochimiques, à savoir Chl et Prl, tout en faisant apparaître la corrélation positive entre elles. Il montre également leur indépendance de la variable Scr.

Tableau VII-2 : Contribution des variables dans la construction des composantes principales

| Variables | Axe 1 | | Axe 2 | |
|------------|---------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|
| | Corrélation | Corrélation ² | Corrélation | Corrélation ² |
| Chl | 0,8558 | 0,7324 | 0,3086 | 0,0925 |
| Prl | 0,8970 | 0,8046 | 0,0629 | 0,0040 |
| Scr | 0,3435 | 0,1180 | - 0,9329 | 0,8703 |

Les variables Chl et Prl ont fortement contribué à la formation de l’axe 1. Elles fournissent, à elles seules, un pourcentage d’explication d’au moins 55 %. De ce fait, leur contribution à la variation totale est très importante. Quant à la variable Scr, elle participe à la formation de l’axe 2, expliquant à elle seule 32,3 % de la variation totale (Figure VII-13).

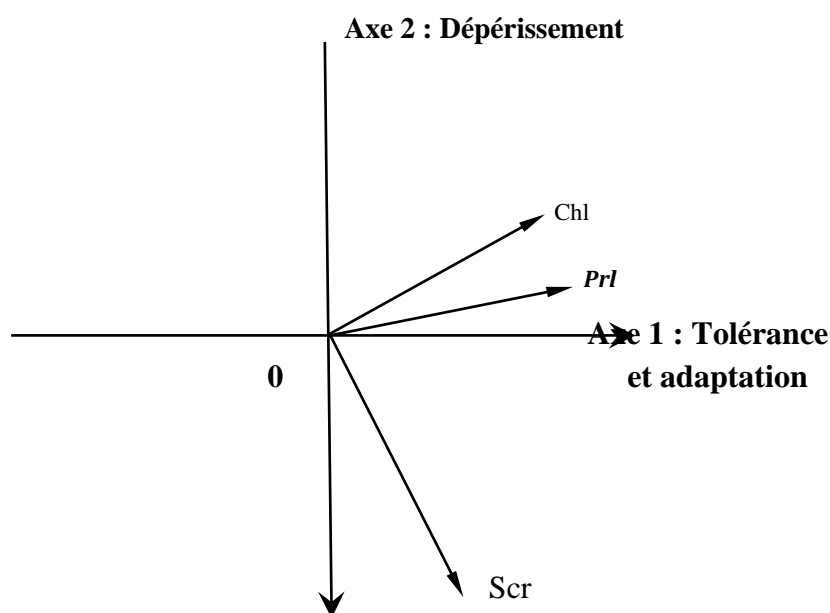


Figure VII-13 : Plan 1 – 2 et cercle des corrélations (Variables biochimiques).

Ces observations sont confirmées dans la matrice de corrélation illustrée dans le tableau VII-2. Le tableau **VII-2** montre les corrélations des variables biochimiques et leur contribution dans la construction des axes **1** et **2**.

VII.2.4.3. Signification des axes principaux

Le nombre des axes principaux à prendre en considération dépend des valeurs propres de chacun et des pourcentages correspondants. La part de l'information expliquée par les axes principaux est la somme de leurs pourcentages. L'axe (1) et l'axe (2) possèdent des valeurs propres différentes, 1,655 pour le premier et 0,969 pour le second, avec des pourcentages respectifs de 55,2 % et 32,3 %. Le pourcentage cumulé des axes (1) et (2), atteignant la valeur de 87,50 %, constitue un pourcentage jugé suffisant pour une approche d'analyse des variables et des individus considérés.

Le choix du nombre de composantes principales est effectué à partir de la figure représentant l'évolution de la variance expliquée en fonction du nombre de composantes principales.

Les variables Chl et Prl sont fortement corrélées avec l'axe **1** car, elles expriment la **tolérance** des espèces vis-à-vis des contraintes écologiques de leurs milieux respectifs (Figure VII-13). Cette dernière constitue la première composante principale.

Dans la partie positive de l'axe **1**, exprimant la tolérance à la pollution et où les variables Chl et Prl sont bien représentées ($\Sigma r^2 = 82,76$ % pour la Chl et $\Sigma r^2 = 80,86$ % pour la Prl), les individus illustrés sont les mieux adaptés aux contraintes du milieu.

De même, la variable Scr, fortement corrélée avec l'axe **2** partie négative, est très bien représentée ($\Sigma r^2 = 98,83$ %) dont la signification est un **dépérissement** du végétal face à la pollution générée par son environnement immédiat (Figure VII-13). Ce qui constitue la deuxième composante principale. Les individus illustrés à ce niveau résistent au dépérissement accéléré par la dégradation des réserves en sucres.

VII.2.4.4. Etude des individus

La dispersion des individus dans le diagramme de la Figure VII-14 témoigne d'une grande diversité dans leur réponse vis-à-vis des contraintes du milieu.

Aucune essence de la station S2 (individus 8, 9, 10, 11 et 12) n'a été affectée aux groupes contenant les individus rassemblés sur la partie positive des axes **1** et **2**, ce qui implique que

tous les arbres à ces niveaux ne tolèrent pas les dépôts de particules et ne manifestent pas de résistance par dégradation de leurs réserves glucidiques. Ils ont donc une adaptation médiocre.

En se maintenant au plan principal, il nous apparaît clairement qu'il y a deux groupes d'essences évoluant surtout par rapport à l'axe **1** et deux autres par rapport à l'axe **2** (Figure VII-14). Comme l'axe **1** est principalement formé par les variables traduisant la tolérance des plantes, il nous serait permis de dire que ces deux groupes se positionnent par rapport à leur accumulation de chlorophylle et de proline ; contrairement aux deux autres groupes qui se positionnent par rapport à leur accumulation de sucres solubles.

En effet, un retour aux données expérimentales montre que le premier groupe se trouvant du coté positif de l'axe **1** renferme les individus 1, 6, 24, 30 qui ont les teneurs en chlorophylle et en proline les plus élevées, manifestant alors leur tolérance aux contraintes de l'environnement. Contrairement au groupe se situant du coté négatif de l'axe **1** et constitué des individus ayant une accumulation des chlorophylles et proline très faible (individus 2, 9, 10, 14, 16, 17, 20, 23 et 25) se traduisant par une résistance médiocre des essences aux contraintes (Figure VII-14).

En dehors de l'individu 28 dont la qualité de la représentation était négligeable, les groupes d'individus affectés sur la partie positive de l'axe **1** et ceux de la partie négative de l'axe **2** ne contiennent aucun spécimen de l'espèce résineuse *Pinus halepensis*. Ses individus sont plutôt répartis parmi ceux qui réagissent à la pollution en conservant leurs réserves glucidiques et en ayant de faibles teneurs aussi bien en chlorophylles qu'en proline. Ceci confirme les résultats obtenus par le dosage de la proline où *Pinus halepensis* a montré des taux faibles au niveau des stations considérées polluées, donc on pourrait considérer que *Pinus* tolère faiblement la pollution due aux dépôts particuliers.

Tableau VII-3 : Codification des individus par rapport aux différentes stations.

| | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 |
|-------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <i>Pinus halepensis</i> | Ph.S1 | Ph. S2 | Ph.S3 | Ph.S4 | Ph.S5 |
| <i>Cupressus sempervirens</i> | Cs.S1 | Cs. S2 | Cs.S3 | Cs.S4 | Cs.S5 |

Les essences qui vont être positivement affectées sur l'axe **1**, accumulent des teneurs importantes aussi bien en chlorophylle qu'en proline ; alors que celles affectées au coté négatif, en accumulent moins et sont, par conséquent, moins tolérantes à la pollution et présentent plus de symptômes de toxicité aux polluants générés au niveau de chacune des

stations. Par ailleurs, les essences affectées sur l'axe 2, coté négatif, accumulent des teneurs plus élevées en sucres solubles qui leur confèrent une meilleure résistance au stress abiotique mais avec la conséquence de l'épuisement des réserves glucidiques ; inversement aux essences affectées au coté positif et qui accumulent les teneurs les plus faibles.

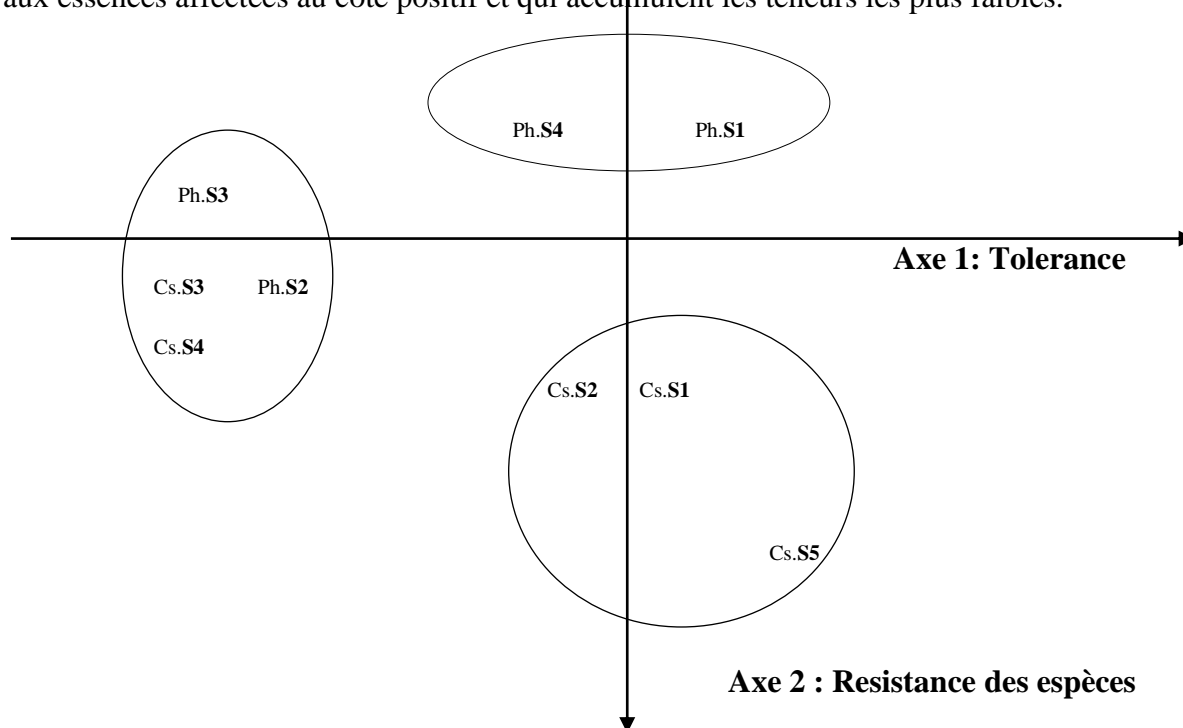


Figure VII-14 : Diagramme des individus de l'ACP appliquée sur variables biochimiques.

Tous les spécimens du genre *Cupressus* appartiennent aux groupes d'individus qui ont contribué à la construction de la partie négative des axes 1 et 2. De ce fait, ils ne tolèrent la pollution ni par accumulation des métabolites chlorophylle et proline, ni par utilisation des réserves glucidiques, ce qui se traduit par le dépérissement des ressources arbustives.

A en juger par leur répartition, les individus 3, 4, 13, 15, 21, 22, et 27, positionnés du coté positif de l'axe 2, avec les coordonnées les plus fortes sur cet axe donc les taux de sucres solubles les plus faibles, paraissent les moins affectés par la pollution en conservant leurs réserves glucidiques, par rapport aux individus 5, 8, 11, 12, 18, 19, 26 et 29, positionnés du coté négatif et accumulant d'importantes teneurs en Scr issus de la dégradation des réserves. Parallèlement à ces dernières, les essences stressées par la poussière ont contribué à la formation de la partie négative de l'axe 1 et c'est surtout *Pinus halepensis* avec une qualité de la représentation élevée (0,63).

Conclusion générale

Généralement, le métabolisme de stress chez les plantes est étudié au cours d'expériences axées sur les effets à court terme des agents de stress, donc sous forme d'un stress aigu et dans des conditions de laboratoire. Cependant, cette forme de stress ne reflète pas réellement les conditions environnementales et naturelles du milieu où, au contraire, les végétaux croissent et se développent dans des conditions de stress chroniques. Pour cela, cette étude s'est concentrée sur un diagnostic des modifications impliquées dans leur métabolisme suite à un stress chronique induit par des polluants contenus dans la matière particulaire sédimentée sur le système foliaire, en milieu naturel.

Les polluants de l'atmosphère, principalement les émissions de poussières ont un impact profond sur la concentration des différents pigments photosynthétiques. En effet, Il y a une corrélation négative entre les dépôts de poussière et les teneurs en chlorophylles dans les aiguilles et verticilles des conifères.

Les effets de la pollution relient la réponse physiologique des plantes à l'accélération du processus de sénescence et/ou dépérissement. Une des manifestations évidentes de la sénescence des plantes est la disparition graduelle de la chlorophylle, associée au jaunissement des feuilles pouvant être lié à une baisse conséquente de la capacité de photosynthèse.

Dans tous les essais effectués, les résultats confirment d'importantes variations dans les teneurs en chlorophylles entre les spécimens de pin et de cyprès localisés au niveau de la station témoin et les stations soumises aux dépôts de poussières, traduisant un état de stress permanent pouvant aboutir à un dépérissement de ces espèces.

La chlorose et la pâleur des parties vertes de la plante, sont la réponse caractéristique de la pollution de l'atmosphère. Dans la chlorose, la couleur vert normal disparaît et les feuilles de la plante acquièrent un vert pâle, jaune ou même blanc. La nécrose désigne la mort des tissus ou des cellules isolées ou de la plante entière. Les contraintes de pollution plus douces, qui induisent en premier lieu une chlorose, peuvent finalement tuer la cellule et la plante.

Le genre *Cupressus* présente une sensibilité à la pollution causée par la dispersion accrue des particules dans l'atmosphère, particulièrement au niveau des stations S2 et S5, alors que *Pinus halepensis* est une espèce qui tolère faiblement le stress dû à la pollution par les dépôts de poussières en affichant les valeurs les plus faibles en proline au niveau des stations les plus polluées. Par conséquent, c'est l'espèce qui manifeste le moins de résistance à la toxicité par les poussières de la cimenterie.

L'analyse des teneurs en métaux dans le tissu foliaire s'avère importante, car elle confirme l'effet de toxicité par accumulation de ceux-ci suite à l'exposition permanente aux polluants.

L'analyse élémentaire performée, utilisant la spectroscopie Raman et la diffraction des rayons X, a mis en évidence plusieurs des constituants et dérivés du ciment et du clinker dans les poussières. Les résultats de ces analyses ont prouvé que la surface de la zone d'étude est un récepteur final d'une importante partie des éléments polluants découlant des établissements industriels, surtout l'industrie du ciment par leur remarquable dispersion, par exemple des particules renfermant du gypse ont été récupérées au niveau de la station témoin (S1).

On constate, de ce fait, la présence de sulfates comme le gypse ou sulfate de calcium dihydraté ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dans la poussière recueillie sur le feuillage de *Pinus halepensis* et de *Cupressus sempervirens* en S3, de sulfates de plomb (PbSO_4), de divers carbonates tels que carbonates de sodium (Na_2CO_3) et de calcium (CaCO_3), et bien évidemment, la plupart des constituants du ciment, par exemple.

Les procédures physiques d'identification qualitative ont fourni des résultats évidents concernant les formes d'association chimiques des minéraux présents dans les poussières et indirectement, une idée sur leur biodisponibilité et mobilité pour les végétaux.

La DRX, efficace pour l'identification des sulfates et probablement moins sensible aux interférences potentielles et à la taille des particules, paraît moins adaptée pour la détection des différents carbonates, où la spectroscopie Raman donne des résultats plus concluants. Puisque la capacité de cartographie unique de la spectroscopie Raman la distingue de la plupart des techniques car elle permet une distribution représentative des produits sur une surface donnée de l'échantillon, souvent à grande échelle de l'ordre de quelques millimètres carrés.

Cependant, il est à noter que, comme toutes les techniques, la spectroscopie Raman a ses propres limites et certaines d'entre elles sont notées dans les points suivants :

- L'efficacité du processus Raman est très faible car seule une petite fraction des photons incidents est convertie en photons diffusés qui atteignent le détecteur. Il en résulte que les émissions de fluorescence et le bruit de fond constituent le plus grand défi pour obtenir de vraies raies Raman. Effectivement, dans tous les résultats d'analyse Raman de ce travail, de nombreux spectres de fluorescence sont détectés, dominant la distribution d'autres constituants d'aérosols.

- La spectroscopie Raman n'a pas les meilleures limites de détection et ne convient pas à l'analyse de traces. Raison pour laquelle la spectrophotométrie d'absorption atomique est utilisée pour la détection des teneurs en éléments traces métalliques.

La pollution de l'air reste la cause la plus importante qui participe à grande échelle dans la dégradation des pigments chlorophylliens photosynthétiques, ce qui signifie une réduction des teneurs en chlorophylles, provoquant ainsi un déclin aperçu dans le développement et la croissance des arbres, notamment à proximité des sites industriels. Pour une meilleure estimation du stress abiotique, l'étude et la connaissance des métabolites biochimiques, telles que les chlorophylles dans les aiguilles des conifères, peut contribuer de les entreprendre comme bons bioindicateurs naturels de la pollution particulaire, et peuvent de ce fait être utilisés dans l'épuration de l'air.

En Algérie, le dépérissement spectaculaire des conifères, donne lieu à plusieurs hypothèses : la pollution particulaire par les dépôts de poussières de la cimenterie de Hamma Bouziane, la nature des éléments constitutifs des poussières, la pollution atmosphérique générée par le trafic et le parc automobile, associés à l'altération des surfaces foliaires, le défrichement et la détérioration du couvert végétal. La persistance de cette situation de dégradation provoque des pertes économiques considérables tant au niveau de la productivité des cultures que sur le plan de la commercialisation des produits.

Références bibliographiques

A :

- ADEME, (2008). La pollution de l'air. Sources, effets, prévention. Dunod Eds, Paris, 211 p.
- Ahnno, V., Medici, R.F., (1995). Inertization of toxic metals in cement matrices: effects on hydration, setting and hardening. *Cement and Concrete Research* 25 (6) : 1147–1152.
- Alloway, B.J., Ayres, D.C., (1997). *Chemical Principles of Environmental Pollution*. Eds. Blackie Academic & Professional, UK, 395p.
- Andrews N.C., (2001). Mining copper transport genes. *Proc. Nalt. Acad. Sci.*, 98: 6543–6545.
- Aravind, P., Prasad, MNV., (2005). Cadmium – Zinc interactions in hydroponic system using *ceratophyllum demersum* L. : adaptative ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology. *Brazilian journal of plant physiology*. 17 (1) : 3 – 20.
- Asavapisit, S., Fowler, G., Cheeseman, C.R., (1997). Solution Chemistry during cement hydration in the presence of metal hydroxide wastes. *Cement and concrete research*. 27 (8): 1249 – 1260.
- Ashraf, M., Foolad M.R., (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 59 (2) : 206 – 216.

B :

- Bajji, M., Kinet, J.M., Lutts, S., (1998). Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halinus* L. and their corresponding callus cultures. *Plant Sciences*, 11 (137) : 131 – 142.
- Banu, N.A., Hoque, A., Watanabe-Sugimoto, M., Matsuoka, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y., Murata, Y., (2009). Proline and glycinebetaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. *J. Plant Physiol.*, 166: 146 – 156.
- Barbillat, J., Bougeart, D., Buntinx, G., Delhaye M., Dhamelin court, P., Fillaux, F., (1999). *Spectrométrie Raman. Techniques de l'ingénieur, traité Analyse et Caractérisation*. 2865 p.
- Barcelo, J., Poschenrieder, C., (1990). Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *Journal of Plant Nutrition* 13 : 1 – 37.
- Baumann, H.A., Morrison, L., Stengel, D.B., (2009). Metal accumulation and toxicity measured by PAM–Chlorophyll fluorescence in seven species of marine macroalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 : 1063 – 1075.
- Behra, P., (2013). *Chimie et environnement*. Dunod. 416 p.
- Benavides, M.P., Galleco, S.M., Tomaro M.L., (2005). Cadmium toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17 (1) : 21 – 34.
- Bernal, M., Cases, R., Picorel, R., Yruela I., (2007). Foliar and root Cu supply affect differently Fe- and Zn-uptake and photosynthetic activity in soybean plants. *Environ. Exp. Bot.*, 60 : 145 – 150.
- Bhardwaj, R., (2012). Wavelet & Correlation Analysis of Air Pollution Parameters Using Haar Wavelet (Level 3). *International Journal of Thermal Technologies*, 2 (2) : 4114 – 160.
- Bi, X., Feng, X., Yang, Y., Li X., Shin, G.P.Y., Li, F., Qiu, G., Li, G., Liu, T., Fu, Z., (2009). Allocation and source attribution of lead and cadmium in maize (*Zea mays* L.) impacted by smelting emissions. *Environmental Pollution* 157 : 834 – 839.

- Boojar, MMA., Goodarzi, F., (2008). Comparative evaluation of oxidative stress status and manganese availability in plants growing on manganese mine. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71 : 692 – 699.
- Boominathan, R., Doran, P.M., (2002). Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertolonii*. *New Phytologist* 156 : 205 – 215.
- Boucher, O., (2012). *Aérosols atmosphériques : impacts et propriétés*. Ed. Springer. 262 p.
- Boudy P., (1950). *Economie forestière Nord Africaine. Monographie et traitement des essences*. Ed Larousse, Paris, pp 29 – 249.
- Boughriet, A., Figueiredo R.S., Laureyns J., Recourt P., (1997). Identification of newly generated iron phases in recent anoxic sediments: ⁵⁷Fe Mössbauer and microRaman spectroscopic studies. *Journal of Chemistry Society, Faraday transactions*. 93 : 3209–3215.
- Burzynski, M., Buckzek, J., (1989). Interaction between Cadmium and Molybdenum affecting the chlorophyll content and accumulation of some heavy metals in the second leaf of *Cucumis sativus* L. *Acta. Physiol. Plant.* 11 : 137 – 145.

C :

- Camefort, H., (1972). *Morphologie des végétaux vasculaires : cytologie, anatomie, adaptation*. Ed. DOIN éditeurs. Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Lyon, 41^e année. 6 : 266 – 277.
- Camus, A., (1914). *Les Cyprès (Genre Cupressus) : Monographie, systématique, biologie, culture et principaux usages*. Ed. Paul Le chevalier. Paris, 106p.
- Caratini, R., (1990). *Les plantes*. Eds. Bordas, Paris, 194p.
- Carter, G.A., (1998). Reflectance wavebands and indices for remote estimation of photosynthesis and stomatal conductance in pine canopies. *Remote Sens. Environ.*, 63 : 61–72.
- Carter, G.A., Spiering, B.A., (2002). Optical properties of intact leaves for estimating chlorophyll concentration. *Journal of environment quality* : 31 (5) : 1424 – 1432.
- CCE (Commission de coopération environnementale), (2008). *La mosaïque nord-américaine. Aperçu des principaux enjeux environnementaux. Rapport de projet*. ISBN 2-923358-52-X. 62p.
- Chagne, D., (2004). *Développement de marqueurs moléculaires chez le pin maritime (Pinus pinaster Ait.) et cartographie génétique comparée des conifères, thèse de doctorat en biologie forestière*. Université Henri Poincaré, Nancy 1. 113p.
- Chatterjee, J., Chatterjee, C., (2000). Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environmental Pollution*. 109 : 69 – 74.
- Chaudhary, S., Kumar, N., (2017). Qualitative and Quantitative Analysis of Aerosols in Sonapat-A National Capital Region-India. *Open Journal of Air Pollution*. 6 : 65 – 75.
- Chauhan, A., Joshi, P.C., (2010). Effect of ambient air pollutants on wheat and mustard crops growing in the vicinity of urban and industrial areas. *New York Science Journal*. 3 (2): 52–60.
- Chaumeil, P., (2006). *Plasticité moléculaire de deux écotypes de pin maritime soumis à un stress osmotique. Thèse de doctorat en biologie forestière*. Université Henri Poincaré, NancyI. 268p.

- Choudhary, M., Jetley, U. K., Khan, M. A., Zutshi, S., Tasneem, F., (2007). Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 66 : 204–209.
- Conti, M.E., Cechetti, G., (2001). Biological monitoring : Lichens as bioindicators of air pollution assessment : a review. *Environmental pollution*. 114 (3) : 471 – 492.
- Cooper, G.M., (1999). *La cellule. Une approche moléculaire*. De Boeck université. 706p.
- Cosio, C., Martinoia, E., Keller, C., (2004). Hyperaccumulation of cadmium and zinc in *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri* at the leaf cellular level. *Plant Physiology* 134: 716 – 725.
- Cosio, C., Vollenweider, P., Keller, C., (2006). Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.) I. Macrolocalization and phytotoxic effects of cadmium. *Environmental and Experimental Botany* 58 : 64 – 74.
- Costa G.; Morel J. L., (1994). Efficiency of H⁺-ATPase activity on cadmium uptake by four cultivars of lettuce. *Journal of Plant Nutrition* 17 : 627 – 637.
- Cseh, E., (2002). Metal permeability, transport and efflux in plants. In: Prasad, M.N.V., and Strzalka, K. (Eds.), *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 1 – 36.
- Cuny, D., Rzepka M.A., Van Haluwyn, C., (2008). Introduction à la biosurveillance végétale et fongique de la qualité de l'air, concept et intérêt. *Spectra Analyse* 264 : 31 – 35.

D :

- Dappe, V., Cuny, D., Hanoune, B., Dumez, S., Austruy, A., Dumat, C., Sobanska S., (2015). Relation entre la composition de particules industrielles et leur transfert dans les feuilles de plantes potagères. *Pollution Atmosphérique*. 225 : 1 – 20.
- De Faria, D.L.A., Lopes F.N., (2007). Heated goethite and natural hematite: Can Raman spectroscopy be used to differentiate them? *Vibrational Spectroscopy* 45 : 117 – 121.
- Debell, H., (1997). Pollution control of cement plant emissions. *Air pollution. International Cement Review. Cement Environmental Yearbook'97*. Trade ship Publications Ltd, pp 31–35.
- Debye, P., Scherrer, P., (1916). Interferenzen an regellos orientierten Teilchen im Röntgen licht. *Physikalische Zeitschrift* 17 : 277 – 283.
- Delauney, A.J., and Verma, D.P.S., (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.*, 4 : 215 – 223.
- Delhaize, E., Ryan, P.R., Randall, P.J., (1993b). Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) II. Aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiology* 103 : 695 – 702.
- Delhaize, E., Ryan, P.R., (1995). Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiology* 107 : 315 – 321.
- Deng, H., Ye, ZH., Wong, MH., (2004). Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental Pollution* 132 : 29 – 40.
- De Parcevaux, S., Huber, L., (2007). *Bioclimatologie. Concepts et applications*. Eds. Quae, 336 p.

- Desai, D., Khare T., Kumar, V., (2012). Sulfate and chloride salinity induced effects on physiological and biochemical parameters of Sorghum. *International journal of biochemistry and biotechnology*. 1 (2) : 5 – 10.
- Devismes P., (1978). Photographic atlas of detrial minerals. Mémoires du bureau des recherches géologiques et minières, France. N°95 (ISSN 0071-8246).
- Dickinson, N.M., Lepp, N.W., (1997). Metals and trees, responses to exposure and exploitation of resistance traits. Third International Conference on the biogeochemistry of trace elements. 15 – 19 mai 1995. *Contaminated Soils*. Eds. INRA, Paris. Les Colloques de l'IFA. 8p.
- Dib, T.A., Monneveux, P., Araus, J.L., (1992). Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur. II : caractères physiologiques d'adaptation. *Agronomie* 12 : 381 – 393.
- Dietz, KJ., Tavakoli, N., Kluge, C., Mimura, T., Sharma, SS., Harris, GC., Chardonnens, AN., Gollmack, D., (2001). Significance of the Vtype ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level. *Journal of Experimental Botany* 52 : 1969 – 1980.
- Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R., (2002). Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation in vivo in pea (*Pisum sativum* L.) root mitochondria. *Plant Cell and Environment* 25 : 687 – 693.
- Ducic, T., Polle, A., (2005). Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17 : 103 – 112.
- Dyer, C.D., Hendra, P., Forsling, W., Forsling, W., (1993). The Raman spectroscopy of cement minerals under 1064 nm excitation. *Spectrochimica Acta* 49A : 715 – 722.

E :

- Eberhart, J.P., (1997). Analyse structurale et chimique des matériaux. Dunod, Paris, 614p.

F :

- Falgayrac, G., (2006). Physico-chimie de microparticules pour la prévision de la spéciation du plomb, du zinc et du cadmium dans les aérosols de pollution atmosphérique. Thèse de doctorat de l'université de Lille. 172p.
- Falgayrac, G., Sobanska S., Laureyns, J., Brémard, C., (2006). Heterogeneous chemistry between PbSO₄ and calcite microparticles using Raman microimaging. *Spectrochimica Acta Part A* 64 : 1095 – 1101.
- Fauveau, P., (1997). Waste not, want not. *International Cement Review*. Cement Environmental Yearbook'97. Tradeship Publications Ltd., pp : 163 – 169.
- Fodor, F., (2002). Physiological responses of vascular plants to heavy metals. In: Prasad, M.N.V., Strzalka, K. (Eds.), *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands : 149 – 177.
- Forbes, V.E., Forbes, T.L., (1997). Ecotoxicologie : théorie et application. INRA, Paris. 259 p.
- Frey, B., Keller, C., Zierold, K., Schulin, R., (2000). Distribution of Zn in functionally different leaf epidermal cells of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Cell Environment* 23: 675 – 687.

Frost R.L., Keeffe, E.C., (2008). Raman spectroscopic study of the sulfite-bearing minerals scotlandite, hannebachite and orschallite: implications for the desulfation of soils. *Journal of Raman Spectroscopy*. 40 : 244 – 248.

G :

Gajewska, E., Sködowska, M., (2007). Relations between tocopherol, chlorophyll and lipid peroxides contents in shoots of Ni-treated wheat. *Journal of Plant Physiology* 164 : 364–366.

Garg, N., Wang, K. (2012). Comparing the performance of different commercial clays in fly ash-modified mortars. *Journal of Sustainable Cement-Based Materials*. 1 (3) : 111 – 125.

Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L., Debraux, G., (1961). *Ressources médicinales de la flore française*. Tome 1. Vigot Frères Éditeurs, Paris. pp 124 – 133.

Giannakoula, A., Moustakas, M., Mylona, P., Papadakis, I., Yupsanis, T., (2008). Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. *Journal of Plant Physiology* 165 : 385 – 396.

Giovanelli, A., De Carlo, A., (2007). *Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*. Ed. Springer. Pp: 93 – 105.

Gitelson, A.A., Merzlyak, M.N., (1996). Signature analysis of leaf reflectance spectra: Algorithm development for remote sensing of chlorophyll. *J. Plant Physiol.* 148: 494– 500.

Goipyron, N., (1981). *Abstracts of the second international congress on analytical techniques in environmental chemistry*. Barcelona, Spain.

Gombert, S., (2005). *Pollution atmosphérique par les métaux*. Biosurveillance des retombées. Expertise environnement. EDP Sciences. ADEME Eds. 87p.

Gonzalez, A., Lynch, J.P., (1999). Subcellular and tissue Mn compartmentation in bean leaves under Mn toxicity stress. *Australian Journal of Plant Physiology* 26 : 811 – 822.

Griffiths, P.; De Haseth, J.A., (2007). *Fourier transform IR spectroscopy*. Willey Interscience 2nd Eds. 592p.

Gunsé, B., Poschenrieder, C., Barcelo, J., (1997). Water Transport Properties of Roots and Root Cortical Cells in Proton and Al-Stressed Maize Varieties. *Plant physiology*. 113 (2): 595–602.

Günthardt-Goerg, M.S., Vollenweider, P., (2007). Linking stress with macroscopic and microscopic leaf response in trees: New diagnostic perspectives. *Environmental Pollution*. 147 : 467 – 488.

H :

Hall, C., Scrivener, K.L., (1998). Oil cement clinker. *Adven. Cem. Bas. Mat.*, 7 : 28 – 38.

Hall, J.L., (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*. 53 (366) : 1 – 11.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transmission metals and diseases. *Biochemistry Journal* 219 : 1 – 14.

Han, F.X., Maruthi Sridhar, B.B., Monts, L.D., Su, Y., (2004). Phytoavailability and toxicity of trivalent and hexavalent chromium to *Brassica juncea*. *New Phytologist* 162: 489 – 499.

Hare, P.D., Cress, W.A., (1997). Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth and Regulation*. 21 : 79 – 102.

- Harrison, R.M., Laxen, D.P.H., Wilson, S.J., (1981). Chemical associations of lead, Cd, Cu, Zn in Street dusts and roadside soils. *American Chemical Society. Environmental Science and Technology* 15 (11) : 1378 – 1383.
- Hartley, J., Cairney, J.W.G., Meharg, A.A., (1999a). Cross-colonization of Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* in the presence of inhibitory levels of Cd and Zn. *New Phytologist* 142 : 141 – 149.
- Hartman, G., Nienhaus, F., Butin, H., Winter, K., (1991). Les symptômes de dépérissement des arbres forestiers. Ed. Atlas de reconnaissance en couleurs des maladies, insectes et divers. Institut Français pour le développement forestier (IDF). 256 p.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J., (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 51 : 463 – 499.
- Hellmann, H., Funk, D., Rentsch, D., Frommer, W.B., (2000). Hypersensitivity of an arabidopsis sugar signaling mutant toward exogenous proline application. *Plant Physiology* 122 : 357 – 368.
- Hong, Z.L., Lakkineni, K., Zhang, Z.M., Verma, D.P.S., (2000). Removal of feedback inhibition of delta (1)-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol.*, 122: 1129–1136.
- Hopkins, W.G., (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck, 514p.
- Hotchandani, S., Ozdemir, U., Nasr, C., Allakhverdiev, SI., Karacan, N., Klimov, VV., Kamat, PV., Carpentier, R., (1999). Redox characteristics of Schiff base manganese and cobalt complexes related to water-oxidizing complex of photosynthesis. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 48 : 53 – 59.
- Hughes T.L., Methven C.M., Jones T.G.J., Pelham S.E., Fletcher P., Hall C., (1995). Determining Cement Composition by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Cem. Bas. Mat.* 2 : 91 – 104.
- Hull, A.W., (1917). A new method of X-ray crystal analysis. *Physical. Review*. 10 : 661 – 696.

J :

- Jackson, J.P., Unkefer, J.P., Delhaiz, E., and Robinson, N.J., (1990). Mechanisms of Trace Metal Tolerance in Plants. *Environmental Injury to Plants*. Academic Press, INC. Eds. Franc Katerman. San Diego, pp: 231 – 255.
- Jallad K.N., Santhanam M., Cohen M.D., Ben-Amotz D., (2001). Chemical mapping of thaumasite formed in sulfate-attacked cement mortar using near-infrared Raman imaging microscopy. *Cement and Concrete Research* 31 : 953 – 958.
- Jeejeebhoy K.N., 1999. The role of chromium in nutrition and therapeutics as a potential toxin. *Nutr. Rev.*, 57 : 329 – 335.
- Jehlicka, J., Vitek, P., Edwards, H.G.M., Heagraves, M., Capoun, T., (2009). Application of portable Raman instruments for fast and non-destructive detection of minerals on outcrops. *Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 73 : 410 – 419.
- Jouve, L., Hoffmann, L., Hausman, J.F., (2004). Polyamine, carbohydrate, and proline content changes during salt stress of aspen (*Populus tremula* L.): involvement of oxidation and osmoregulation metabolism. *Plant Biol.*, 6 : 74 – 80.

K :

- Kadik, B., (1987). Contribution à l'étude du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) en Algérie : Ecologie, dendrométrie, morphologie. pp : 181 – 206.
- Karp, G., (2004). Biologie cellulaire et moléculaire. De Boeck université. 3rd Eds. 850p.
- Kelly, J.T., Chuang, C.C., and Wexler, A.S., (2007). Influence of dust composition on cloud droplet formation. *Atmos. Environ.* 41 : 2904 – 2916,.
- Kerton, P., (1997). Cleaning up the industry image. *International Cement Revue, Cement Environmental Yearbook 97'*. Tradeship Publications Ltd. 1997, pp : 20 – 22.
- Khan, A.A., McNeilly, T., Collins, C., (2000). Accumulation of amino acids, proline, and carbohydrates in response to aluminum and manganese stress in maize. *J. Plant Nutri.*, 23 : 1303 – 1314.
- Kinet, J.M., Benrebiha, F., Bouzid, S., Laihacar, S., Dutuit, P., (1998). Le réseau *Atriplex* : Allier Biotechnologies et Ecologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions arides et semis arides. *Cahiers d'Agriculture*, 7 : 505 – 509.
- Kishor, P.B.K., Sangam, S., Amrutha, R.N., Sri Laxmi, P., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P., Sreenivasulu, N., (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.*, 88 : 424 – 438.
- Klotke, J., Kopka, J., Gatzke, N., Heyer, A.G., (2004). Impact of soluble sugar concentrations on the acquisition of freezing tolerance in accessions of *Arabidopsis thaliana* with contrasting cold adaptation—evidence for a role of raffinose in cold acclimation. *Plant Cell Environ.*, 27 : 1395 – 1404.
- Kochian, L.V., (1995). Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 46 : 237 – 260.
- Koura, N., Kohara S., Takeuchi, K., Takahasi, S., Curtiss, L. A., Grimsditch, M., Saboungi, M. L., (1996). Alkali carbonates: Raman spectroscopy, ab initio calculations and structure. *Journal of Molecular Structure*, 382 : 163 – 169.
- Kovacik, J., Klejdus, B., Kadukova, J., Backor, M., (2009). Physiology of *Matricaria chamomilla* exposed to nickel excess. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 : 603 – 609.
- Kumar, V., Shriram, V., Kishor, P.B.K., Jawali, N., Shitole, M.G., (2010). Enhanced proline accumulation and salt stress tolerance of transgenic *Indica rice* by over expressing P5CSF129A gene. *Plant biotechnol. Rep.* 4 : 37 – 48.
- Küpper, H., Küpper, F., Spiller, M., (1998). *In situ* detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants. *Photosynthesis Research.* 58 : 123 – 133.

L :

- Lachenal, G., (1998). Analyse par spectroscopie proche infrarouge (PIR) et applications aux polymères. *Analisis Magazine*, 26 (4) : 20 – 29.
- Lagriffoul A., Mocquot B., Mench M., 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.
- Lambers, H., Chapin, F.S., Pons, T.L., (2008). *Plant physiological ecology*. 2nd Eds. Springer, DOI:10.1007/978-0-387-78341-3_2.

- Landis, W.G., Yu, M.H., (1995). Introduction to environmental toxicology. Impacts of chemicals upon ecological systems. CRC Press, Inc. Boca Raton, USA, 328p.
- Lehninger, A.L., (1989). Principes de Biochimie. Aminoacides et peptides ; La photosynthèse. Eds.Flammarion Medecine-Sciences, Johns Hopkins University, Paris, 1001p.
- Leng, Y., (2008). Materials characterization introduction to microscopic and Spectroscopic Methods. Wiley & Sons (Asia) Pte Ltd. ISBN 978-0-470-82298-2 (HB), 337p.
- Levizou, E., Manetas Y., (2007). Photosynthetic pigment contents in twigs of 24 woody species assessed by in vivo reflectance spectroscopy indicate low chlorophyll levels but high carotenoid/chlorophyll ratios. *Environmental and Experimental Botany* 59 : 293 – 298.
- Liang, Y.C., Yang, C.G., Shi, H.H., (2001). Effects of silicon on growth and mineral composition of barley grown under toxic levels of aluminium. *Journal of Plant Nutrition* 24 : 229 – 243.
- Liang, Y., Zhang, W., Chen, Q., Liu, Y., Ding, R., (2006). Effect of exogenous silicon (Si) on H⁺-ATPase activity, phospholipids and fluidity of plasma membrane in leaves of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environmental and Experimental Botany* 57 : 212–219.
- Lieutaghi, P., (2004). Le livre des Arbres, Arbuustes & Arbisseaux, ACTES SUD. 998 – 1002.
- Loescher, W.H., (1987). Physiology and metabolism of sugar alcohols in higher plants. *Physiol. Plant* 70 : 553 – 557.
- Loreti, E., De Bellis, L., Alpi, A., Perata, P., (2001). Why and How Do Plant Cells Sense Sugars? *Annals Bot.*, 88 : 803 – 812.
- Losi, M.E., Amrhein, C., Frankenberger, W.T., (1994). Factor affecting chemical and biological reduction of Cr(VI) in soil. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13 : 1727 – 1735.
- Lucero, H.A., Andreo, C.S., Vallejos, R.H., (1976). Sulphydryl groups in photosynthetic energy conservation. III. Inhibition of photophosphorilation in spinach chloroplasts by CdCl₂. *plant Sci. Lett.* 6 : 309 – 313.
- Lutts, S., Majerus, V. Kinet, J.M., (1999). NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Physiol. Plant.*, 105 : 450 – 458.

M :

- Ma, J.F., Hiradate, S., Matsumoto, H., (1998). High aluminum resistance in buckwheat. II. Oxalic acid detoxifies aluminum internally. *Plant Physiology* 117 : 753 – 759.
- Marschner, H., (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2nd edition, Academic Press, 889.
- Martin, S.T., Yu, J., Han, J.H., Verdier, M., Lit, J., Buseck, P.R., (2000). An aerosol chemical reactor for coating metal oxide particles with (NH₄)₂SO₄-H₂SO₄-H₂O. Part 2 : manipulation of the metal oxide core. *Journal of Aerosol Science* 31 (11) : 1283 – 1298.
- Martinelli, T., (2008). In situ localization of glucose and sucrose in dehydrating leaves of *Sporobolus stapfianus*. *Journal of Plant Physiology*, 165 : 580 – 587.
- Martinez-Ramirez S., Sanchez-Cortes, S., Garcia-Ramos, J.V., Domingo, C. Fortes, C., Blanco, Varela, M.T., (2003). Micro-Raman spectroscopy applied to depth profiles of carbonates formed in lime mortar. *Cement and concrete research.* 33 : 2063 – 2068.
- Mattielli N., Petit J.C.J., Deboudt K., Flament P., Perdrix E., Taillez A., Rimetz-Planchon J., Weis D., (2009). Zn isotope study of atmospheric emissions and dry depositions within a 5 km radius of a Pb–Zn refinery. *Atmos. Environ.*, 43: 1265 – 1272.

- Mengel, K., Kirkby, E.A., Kosegarten, H., Appel, T., (2001). Principles of Plant Nutrition, 5th Eds, Springer, 849p.
- Mijno, V., (2007). Modifications de la composition de déchets métallifères, miniers et industriels, stabilisés par liants hydrauliques et soumis à des tests de lixiviation. Thèse de doctorat, Université de Limoges. 224p.
- Milla, RMA., Butler, E., Huete, RA., Wilson, CF., Anderson, O., Gustafson PJ., (2002). Expressed Sequence Tag-Based Gene Expression Analysis under Aluminum Stress in Rye. *Plant Physiol* 130: 1706 – 1716.
- Millet, J., (2012). L'architecture des arbres des régions tempérées : son histoire, ses concepts, ses usages. Eds. Multimondes. 397 p.
- Monteiro, M.S., Santos, C., Soares, A.M.V.M., Mann, R.M., (2009). Assessment of biomarkers of cadmium stress in lettuce. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 811 – 818.
- Moore, J.W., (1991). Inorganic contaminants of surface water (Research and Monitoring Properties). *Springer Series on Environmental Management*, Alberta, Canada, pp: 82 – 83.
- More, D. White, J., (2005). Encyclopédie des Arbres, plus de 1800 espèces et variétés du monde, flammarion. 230 – 231.
- Moustakas, M., Ouzounidou, G., Lannoye, R., (2008). Aluminum effects on photosynthesis and elemental uptake in an aluminum-tolerant and non-tolerant wheat cultivar. *Journal of plant nutrition*. 18 (4) : 669 – 683.
- Mukhopadhyay, M.J., Sharma, A., (1991). Manganese in cell metabolism of higher plants. *The Botanical Review* 57: 117 – 149.
- Mulgrew, A. and Williams, P., (2000). Biomonitoring of Air Quality using Plants. Air Hygiene Report N°10, WHO CC For Air Quality Management and Air Pollution Control, 200p.
- Mysliwa-Kurdziel, B., Prasad, M.N.V., Strzalka, K., (2002). Heavy metal influence on light phase of photosynthesis. In Prasad M.N.V., Strzalka K. *Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants*. Kluwer Academic Publishers: 229 – 250.

N :

- Nahal, I., (1962). Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.). étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. *Ann. Eco. Natio. Des Eaux et forets*. 208 p.
- Neff, D., (2003). Apport des analogues archéologiques à l'estimation des vitesses moyennes et à l'étude des mécanismes de corrosion à très long terme des aciers non alliés dans les sols. Thèse de doctorat, université de Technologie de Compiègne. 167p.
- Nichan, M., (2015). Contribution à l'étude du dépérissement du Cyprès vert (*Cupressus sempervirens* L.) dans les monts des Traras Occidentaux (Wilaya de Tlemcen). Thèse de Doctorat. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen. 247p.
- Nithamathi, C. P., Indir A.V., (2005). Imp act of air pollution On *Ceasalpinia sepiaria* Linn. in Tuticorin City. *Indian Journal of Environment and Ecoplanning*. 10 (1) : 449 – 452.

O :

- O.M.S (Organisation mondiale de la santé), (2015). Publication des premières valeurs guides de l'O.M.S sur la qualité de l'air intérieur consacrées aux substances chimiques.
- Ouahes, R., (1995). Eléments de radiocristallographie. Office des Publications Universitaires, Alger, 249p.

P :

- Panda, S.K., Choudhary, S., (2005). Chromium stress in plants. *Brazilian Journal of plant Physiology* 17: 95 – 102.
- Pandey, N., Sharma, C.P., (2002). Effect of heavy metals Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. *Plant Science* 163: 753 – 758.
- Parker, J.C., Siegel, R.W., (1990). Calibration of the Raman spectrum to the oxygen stoichiometry of nanophase TiO_2 . *Applied Physics Letters*. 57 : 943 – 945.
- Pavlikova, D., Pavlik, M., Staszko, L., Motyka, V., Szakova, J., Tlustos, P., Balik, J., (2008). Glutamate kinase as a potential biomarker of heavy metal stress in plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70: 223 – 230.
- Pelletier, E., Campbell, P.G.C., Denizeau, F., (2004). *Ecotoxicologie moléculaire. Principes fondamentaux et perspectives de développement*. Presse de l'université du Québec. 465 p.
- Person, A., Petit-Covieux, F., Le Moulec, Y., Festy, B., (1993). Contribution des principales sources en métaux et métalloïdes à la pollution particulaire dans l'agglomération parisienne. *Pollution Atmosphérique, Numéro spécial : les métaux lourds* 139 : 75 – 88.
- Peschard, A., Govina, A., Pourchez J., Fredon E., Bertrand L., Maximilien S., Guilhot B., (2006). Effect of polysaccharides on the hydration of cement suspension. *Journal of the European Ceramic Society*, 26 : 1439 – 1445.
- Pinto, A.P., Mota, A.M., de Varennes, A., Pinto, F.C., (2004). Influence of organic matter on the uptake of Cd, Zn, Cu and Fe by sorghum plants. *Science and Total Environment* 326: 239 – 247.
- Piret, T. et Kooken, G., (1979). Etude du transfert air – plante du Cd et du Zn. *Bull. Rech. Agron. Gembloux*, 14 (2) : 177 – 186.
- Poschenrieder, C., Llugany, M., Barcelo, J., (1995). Short-term effects of pH and Al on mineral nutrition in maize varieties differing in proton and aluminum tolerance. *Journal of Plant Nutrition* 18: 1495 – 507.
- Potgieter-Vermaak S.S., Potgieter J.H., Van Grieken R., (2006). The application of Raman spectrometry to investigate and characterize cement, Part I: A review. *Cement and Concrete Research* 36: 656 – 662.
- Pourrut, B., Perchet, G., Silvestre, J., Cecchi, M., Guiresse, M., Pinelli E., (2008). Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots. *Journal of plant physiology*. 165 (6) : 571 – 576.
- Prajapati S.K., Tripathi B.D., (2008). Seasonal variation of leaf dust accumulation and pigment content in plant species exposed to urban particulates pollution. *Journal of Environmental quality*. 37 : 865 – 870.
- Prasad, M.N.V., Strzałka, K., (2002). *Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants*. Kluwer Academic Publishers, 432 p.
- Prusty, B.A.K., Mishra, P.C., Azeez, P.A., (2005). Dust accumulation and leaf pigment content in vegetation near the national highway at Sambalpur, Orissa, India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60 : 228 – 235.
- Puckett, K.J., Nieboer, E., Flora, W.P., Richardson, D.H.S., (1973). Sulphur dioxide : Its effect on photosynthetic ^{14}C fixation in lichens and suggested mechanism of phytotoxicity. *The New Phytologist*, 72 : 141 – 154.

Pushpalal, G.D.K., Kawano, T., Tadashi, K., Hasegawa, M., (1997). Chemical characterization of calcium-aluminate-phenol resin composite. *Advn. Bas. Mat.* 6 : 45 – 52.

Q :

Quartacci, M.F., Cosi, E., Navari-Izzo, F., (2001). Lipids and NADPH-dependent superoxide production in plasma membrane vesicles from roots of wheat grown under copper deficiency or excess. *Journal of Experimental Botany* 52 : 77 – 84.

Quezel, P., (1986). Les pins du groupe *Halepensis*. *Ecologie, végétation, écophysiologie. CIHEAM – options méditerranéennes.* 1 : 11 – 23.

Quisefit, J.P., (1996). A 100 ans de la découverte des rayons X. *Laboratoire Inter universitaire des Systèmes Atmosphériques. Equipe Rayons X, Université Paris VII, URA CNRS 1404,* 5 : 1 – 5.

R :

Ram, S.S., Majumder, S., Chaudhuri, P., Chanda, S., Santra, S.C., Chakraborty, A., Sudarshan, M., (2015). A Review on Air Pollution Monitoring and Management Using Plants With Special Reference to Foliar Dust Adsorption and Physiological Stress Responses. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology.* 45 (23) : 2489 – 2522.

Ramade, F., (2005). *Eléments d'écologie appliquée.* 6^{ème} édition. Dunod.

Ramade, F., (2007). *Introduction à l'écotoxicologie : Fondements et applications.* Lavoisier, 648p.

Rana, B.C., (1995). *Pollution and biomonitoring.* Eds. McGraw-Hill Publishing Company limited, New Delhi, 452p.

Rausser, W.E., Dumbroff, E.B., (1981). Effects of excess cobalt, nickel and zinc on the water relations of *Phaseolus vulgaris*. *Environmental and Experimental Botany* 21 : 249 – 255.

Rayapati, P.J., Stewart, C.R., Hack, E., (1989). Pyrroline-5-Carboxylate reductase is in pea (*Pisum sativum* L.) leaf chloroplasts. *Plant Physiol.* 91 : 581 – 586.

Rebbah, A., Rebbah, H., (1993). *Techniques de diffraction des rayons X et interprétation des diagrammes.* Office des Publications Universitaires, Alger, 73p.

Rejskova, A., Patkova, L., Stodulkova, E., Lipavska, H., (2007). The effect of abiotic stresses on carbohydrate status of olive shoots (*Olea europaea* L.) under in vitro conditions. *J. Plant Physiol.*, 164 : 174 – 184.

Requardt A., Köhl M., Schuck A., Poker J., Janse G., Masvar R., Päivinen R., (2007). Feasibility study on means of combating forest dieback in the European Union. EC DG ENV Contract (070102110004/2006/449050/MAR/B1), Brussels, Belgium, pp. 79 + Annex I, II, III.

Richter, G., (1993). *Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie.* Ed. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, France, 526p.

Riom, C., (2010). *Le Cupressus sempervirens : approche du concept du pollinier sentinelle nantais.* Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Nantes. Pp : 3 – 20.

Rodriguez, F.I., Esch, J.J., Hall, A.E., Binder, B.M., Schaller, G.E., Bleeker, A.B., (1999). A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. *Science* 283 : 996 – 998.

Rôle, R., (1965). *Flore des arbres, arbustes et arbrisseaux.* Tome 4 : *Essences introduites.* Eds. La Maison Rustique, pp : 30 – 82.

Rosasco, G.J., (1980). In advances in Raman and Infrared Spectroscopy. R.J.H. Clark and R.E. Hester Eds., Heyden, p. 223. Rossetti, V.A., Medici, F., (1995). Inertization of toxic metals in cement matrices: effects on hydration and hardening. Cement and Concrete Research. 25 : 1147 – 1152.

S :

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

Samantaray, S., Rout, G.R., Das, P., (1998). Role of chromium on plant growth and metabolism. ACTA Physiologiae Plantarum 20: 201 – 212.

Samecka-Cymerman, A., Kosior, G., Kempers A.J., (2006). Comparison of the moss *Pleurozium schreberi* with needles and bark of *Pinus sylvestris* as biomonitors of pollution by industry in Stalowa Wola (southeast Poland). Ecotoxicology and Environmental Safety. 65 (1) : 108 – 117.

Sanita di Toppi, L., Gabbrielli, R., (1999). Response to cadmium in higher plants. Environmental and Experimental Botany 41 : 105 – 130.

Sawidis, T., Marnasidis, A., Zachariadis, G., and Stratis, J., (1995). A study of air-pollution with heavy metals in Thessaloniki City (Greece) using trees as biological indicator. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, (28) 1 : 118 – 124.

Schützendübel, A., Polle, A., (2002). Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. Journal of Experimental Botany 53: 1351 – 1365.

Schwacke, R., Grallath, S., Breitkreuz, K.E., Stransky, E., Stransky, H., Frommer, W.B., Rentsch, D., (1999). LeProT1, a Transporter for Proline, Glycine Betaine, and γ -Amino Butyric Acid in Tomato Pollen. *Plant Cell*, 11 : 377 – 392.

Sgherri, C., Quartacci, M.F., Navari-Izzo, F., (2007). Early production of activated oxygen species in root apoplast of wheat following copper excess. Journal of Plant Physiology 164: 1152 – 1160.

Sharma, D.C., Chatterjee, C., Sharma, C.P., (1995). Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. c.v. Dh 2204) metabolism. Plant Science 111 : 145 – 151.

Sharma, S.K., Misra, A.K., Lucey, P.G., Wiens, R.C., Clegg, S.M., (2007). Combined remote LIBS and Raman spectroscopy at 8.6 m of sulfur containing minerals, and minerals coated with hematite or covered with basaltic dust. Spectrochimica Acta Part A. 68 : 1035 – 1045.

Sharma, S.S., Dietz, K.J., (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. Journal of Experimental Botany 57 : 711 – 726.

Shawabkeh, R.A., (2005). Solidification and stabilization of cadmium ions in sand–cement–clay mixture Journal of Hazardous Materials. (B) 125 : 237 – 243.

Shields, R., and Burnett, W., (1960). Determination of protein bound carbohydrate in serum by a modified anthrone. *Méthod Anal. Chem.*, 32 : 885 – 886.

Siedlecka, A., Krupa, Z., Samuelson, G., Öquist, G., Gardeström, P., (1997). Primary carbon metabolism in *Phaseolus vulgaris* plants under Cd/Fe interaction. Plant Physiology and Biochemistry 35 : 951 – 957.

- Signes-Frehel, M., Maes P., Haehnel C., (1996). Etude des phases d'un clinker par diffractométrie des rayons X : vers la quantification. Journal de physique. JY Colloque C4, supplément au Journal de Physique ID, 6 : 134 – 142.
- Sinanis, S., Aleksandrova, M., Schaber K., (2011). Characterization of Multicomponent Aerosols by Raman Spectroscopy, *Aerosol Science and Technology*, 45 (6) : 751 – 757.
- Singh, K.P., Malik, A., Mohan, D., Sinha, S., Singh, V.K., (2005a). Chemometric data analysis of pollutants in wastewater – a case study. *Anal. Chim. Acta*. 532 : 15 – 25.
- Sinha, P., Dube, B.K., Chatterjee, C., (2006). Manganese stress alters phytotoxic effects of Cr in green gram physiology (*Vigna radiata* L.) cv. PU 19. *Environmental and Experimental Botany* 57 : 131 – 138.
- Sinha, S., Basant, A., Malik, A., Singh, K.P., (2009). Iron-induced oxidative stress in a macrophyte : a chemometric approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72 : 585 – 595.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., (2003). Principes d'analyse instrumentale. Eds. Deboek. 380 – 444.
- Sobanska S., Falgayrac G., Laureyns J., Brémard C., (2006). Chemistry at level of individual aerosol particle using multivariate curve resolution of confocal Raman image. *Spectrochimica Acta Part A* 64 : 1102 – 1109.
- Sobanska S., Laureyns J., (2008). Caractérisation de particules primaires issues de fours de cimenterie. Rapport LASIR. 14p.
- Solomon, E.I., Lowery MD., (1993). Electronic structure contributions to function in bioinorganic chemistry. *Science* 259 : 1575 – 81.
- Sportisse, B., (2008). La pollution atmosphérique : des processus à la modélisation. Springer Ed. 360p.
- Srinivas, V., Balasubramanian, D., (1995). Proline Is a Protein-Compatible Hydrotrope ? *Langmuir*, 11 : 2830 – 2833.
- Stenbock-Farmer, K., (1978). Mise au point de techniques de lavage de feuilles en vue d'estimer les dépôts de particules. *Bull. E.R.A., Bruxelles*, 3 : 63 – 75.
- Stephan D., Mallmann R., Knöfel D., Härdtl R., (1999). High intakes of Cr, Ni, and Zn in clinker. Part II. Influence on the hydration properties. *Cement and Concrete Research*, 29 : 1959 – 1967.
- Stobart, A.K., Griffiths, T., Bukhari, I.A., Sherwood, R.P., (1985). The effects of Cd²⁺ on chlorophyll in leaves of barley. *Physiol. Plant.*, Copenhagen, 63 : 293 – 298.
- Swamy, V., Kuznetsov, A., Dubrovinsky, L.S., Caruso, R.A., Shchukin, D.G., Muddle B.C. (2005). Finite-size and pressure effects on the Raman spectrum of nanocrystalline anatase TiO₂. *Physical Review. B* 71, 184302 : 1 – 11.

T :

- Tabuchi, A., Matsumoto, H., (2001). Changes in cell-wall properties of wheat (*Triticum aestivum*) roots during aluminum-induced growth inhibition. *Physiologia Plantarum* 112 : 353 – 358.
- Tabuchi, A., Kikuia, S., Matsumoto, H., (2004). Differential effects of aluminium on osmotic potential and sugar accumulation in the root cells of Al-resistant and Al-sensitive wheat. *Physiologia Plantarum* 120 : 106 – 112.

- Tarrida, M., Madon, M., Le Rolland, B., Colombet, P., (1995). An In-Situ Raman Spectroscopy Study of the Hydration of Tricalcium Silicate. *Advn. Cem. Bas. Mat.* 2 : 15 – 20.
- Tarrida, M., Madon, M., Le Rolland, B., (2002). Etude par spectroscopie Raman de l'hydratation d'un ciment Portland. *Matériaux*, 1 – 4.
- Tatar, E., Mihucz, V.G., Varga, A., Zaray, G., Cseh, E., (1999). Effect of lead, nickel and vanadium contamination on organic acid transport in xylem sap of cucumber. *Journal of inorganic Biochemistry* 75 : 219 – 223.
- Tegischer K., Tausz M., Wieser G., Grill D., (2002). Tree and needle age dependent variations in antioxidants and photoprotective pigments in Norway spruce needles at the alpine timberline. *Tree Physiol.*, 22 : 591 – 596.

V :

- Valko M., Moris H., Corin M.T.D., (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Cur. Med. Chem.*, 12 : 1161 – 1208.
- Van Assche, F., Clijsters, H., (1990). Effects of metals on enzyme activities in plants. *Plant, cell and Environment* 13 : 195 – 206.
- Van Haluwyn, C., Cuny, D., Garrec, J.P. (2011). Définitions, concepts et enjeux généraux de la biosurveillance de la qualité de l'air. *Pollution Atmosphérique -Numéro Spécial* : 7 – 12.
- Vazquez, M.D., Poschenrieder, CH., Barcelo, J., (1987). Chromium (VI) induced structural and ultrastructural changes in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Annals of Botany* 59: 427 – 438.
- Vereyken, I.J., Chupin, V., Hoekstrat, F.A., Smeekens, S.C.M., De Kruijff, B., (2003). The effect of fructan on membrane lipid organization and dynamics in the dry state. *Biophysic J.*, 84 : 3759 – 3766.
- Vitória A.P., Da Cunha M., Azevedo R.A., (2006). Ultrastructural changes of radish leaf exposed to cadmium. *Environmental and Experimental Botany* 58 : 47 – 52.
- Voet, D., and Voet, J.G, (1998). *Biochimie*. De Boeck Université, Paris, Brussels, pp: 648–782.

W :

- Wang, S., Vipulanandan, C., (2000). Solidification/stabilization of Cr(VI) with cement Leachability and XRD analyses. *Cement and Concrete Research* 30 : 385 – 389.
- Weckx, J.E.J., Clijsters, H.M.M., (1996). Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. *Physiol Plant* 96 : 506 – 12.
- Weinman S., Mehul P., (2004). *Toute la biochimie*. DUNOD. 452 p.
- Welch, R.M., Norvell, W.A., (1999). Mechanisms of cadmium uptake, translocation and deposition in plants. In McLaughlin M.J., Singh A., Eds., *Cadmium in Soils and Plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp : 125 – 150.
- Whiston, C., (1996). X-ray methods. *Analytical chemistry by open learning*. Eds. ACOL and Thames Polytechnic, London, 426p.
- Windig, W., Antalek, B., Lippert, J. L., Batonneau Y., Brémard, C., (2002). Combined use of conventional and second-derivative data in the SIMPLISMA Self-Modeling Mixture Analysis Approach. *Anal. Chem.* 74 (6), pp 1371 – 1379.

Witham, F.H., Blaydes, D.F., and Devlin, R.M., (1971). Experiments in plant physiology. Eds. Van Nostrand Reinhold Company, 245p.

Y :

Yamamoto, Y., Kobayashi, Y., Rama Devi, S., Rikiishi, S., Matsumoto, M., (2003). Oxidative stress triggered by aluminum in plant roots. Plant and Soil. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. 255 : 239 – 243.

Yruela, I. (2005). Copper in plants. Brazilian Journal of plant Physiology 17: 145 – 156.

Z :

Zarco-Tejada, P.J., Miller, J.R., Mohammed, G.H., Noland, T.L., Sampson, P.H., (2002). Vegetation stress detection through chlorophyll a+b estimation and fluorescence effects on hyperspectral imagery. J. Environ. Qual., 31 : 1433 – 1441.

Zayed, J., Andre, P., Kennedy G., (1991). Variation of Aluminium Levels in Black Spruce (*Picea mariana*). Water, Air and Soil Pollution 55 : 334 – 337.

Zhao, F.J., Lombi E., Breedon T., McGrath S.P., (2000). Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. Plant Cell and Environment 23 : 507 – 514.

Zhu, L.Y., Pilon-smith, E.A.H., Tarun, A.S., Weber, S.U., Jouanin, L. Terry, N., (1999). Cadmium tolerance and accumulation in Indian Mustard is enhanced by overexpressing γ -Glutamylcysteine synthetase. Plant Physiology 121 : 1169 – 1182.

- Bieleski R.L., 1982. Sugar alcohols. In: Loewus F., Tanner W., editors. Encyclopedia of plant physiology, New Series, vol. 13A. Berlin: Springer, p. 92–158.
- De Filippis L.F., Hampp R., Ziegler H., 1981a. The effects of sublethal concentrations of zinc, cadmium and mercury on *Euglena*. Growth and pigments. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 101: 37–47.
- Dreier X. Goring M., 1974. Der einfluss hoher salzkonzentrationen auf verschiedene physiologische parameter von maisswizzen. *Winz. Der HU. Berlin. Nath. Naturwiss R. 23: 641–644.*
- Gitelson A.A., Merzlyak M.N., 1996. Signature analysis of leaf reflectance spectra: Algorithm development for remote sensing of chlorophyll. *J. Plant Physiol.*, 148: 494–500.
- Hall C., Scrivener K.L., 1998. Oil cement clinker. *Adven. Cem. Bas. Mat.*, 7: 28–38.
- Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J., 1999. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *J. Exp. Bot.*, 50, 413–434.
- Hayashi F., Ichino T., Osanai M., Wada K., 2000. Oscillation and regulation of proline content by P5CS and ProDH gene expressions in the light/dark cycles in *Arabidopsis thaliana* L. *Plant Cell Physiol.*, 41: 1096–1101.
- Heath R.L., 1989. Alteration of chlorophyllin plants upon air pollution exposure. Biological markers of air pollution stress and damage in forests, committee on biological markers of air pollution damage in trees, *National Research Council*, National Academy Press, Washington DC.
- Heinecke D., Sonnewald U., Büßis D., Günter G., Leidreter K., Wilke I., Raschle K., Willmitzer L., Heldt H.W., 1992. Apoplastic expression of yeast-derived invertase in potato. *Plant Physiol.*, 100: 301 – 308.
- Hoekstra F.A. Golovina E.A., 1999. Membrane behaviour during dehydration: implication for desiccation tolerance. *Rus. J. Plant Physiol.*, 46: 295–306.
- Impens R., 1989. Les causes non parasitaires des maladies. *Traité de pathologie végétale*, SEMAL, J. Eds. Presses Agronomiques de Gembloux, Belgique, pp: 39 – 83.
- Kadpal R.P., Rao N.A., 1985. Alteration in the biosynthesis of proteins and nucleic acid in finger millet (*Eleusine coracana*) seedling during water stress and the effect of proline on protein biosynthesis. *Plant Sci.* 40: 73–79.
- Kinnunen H., Laakso K., Huttunen S., Laitat E., 1999. Responses to enhanced UV of epicuticular wax and needle morphology in provenances of *Pinus Sylvestris* L. and *Picea abies* Karst. *Acta Universitatis Ouluensis*, 331 : 1–16.
- Knipling E.B., 1970. Physical and physiological basis for the reflectance of visible and near-infrared radiation from vegetation. *Remote Sens. Environ.* 1:155–159. In Moran J.A., Mitchell K.A., Goodmanson G., Stockburger K.A., (2000).
- Kovacika J., Klejdusb B., Kadukovac J., Backora M., 2009. Physiology of *Matricaria chamomilla* exposed to nickel excess. *Ecotox. Environ. Safety*, 72: 603–609.
- Kupper H., Lombi E., Zhao F.J., McGrath S.P., 2000. Cellular compartmentation of Cd and Zn in relation to other elements in hyperaccumulation *Arabidopsis halleri*. *Planta*, 212 (1): 75–84.
- Liu J. Zhu J.K., 1997. Proline accumulation and salt-stress induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 114: 591–506.
- Loescher W.H., 1987. Physiology and metabolism of sugar alcohols in higher plants. *Physiol. Plant*, 70: 553–557.
- Lutts S., Majerus V., Kinet J.M., 1999. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Physiol. Plant.*, 105: 450–458. (Abstract).

- Massantini F., Fauili R., Magnani G., Oggiano N., 1988. Biotechnology for high quality vegetables. *Soil. Culture*, 4 (2): 27–40.
- Moran J.A., Mitchell K.A., Goodmanson G., Stockburger K.A., 2000. Differentiation among effects of nitrogen fertilization treatments on conifer seedlings by foliar reflectance: a comparison of methods. *Tree Physiol.*, 20: 1113–1120.
- Neighbour E.A., Cottam D.A., Mansfield T.A., 1988. Effects of sulphur dioxide and nitrogen dioxide on the control of water loss by birch (*Betula* spp.). *New Phytol.*, 108: 149–157.
- Nilsson S., Sallinäs O., 1999. Pollution atmosphérique et forêts européennes : des modèles de simulation à l'appui des politiques forestières. *Forêt et Environnement*, 163 : 1 – 12.
- Paleg L.G., Steward G.R., Bradbeer J.W., 1984. Proline and glycine betaine influence proline salvation. *Plant Physiol.*, 75: 974–978.
- Pandey J., Agrawal M., 1994. Evaluation of Air-pollution phytotoxicity in seasonally dry tropical urban environment using three woody perennials. *New Physiol.*, 126 (1): 53 – 61.
- Philip E. Azlin Y.N. 2005. Measurement of soil compaction tolerance of *Lagestromia speciosa* (L.) Pers. using chlorophyll fluorescence. *Urban Forestry & Urban Greening*, 3: 203–208.
- Prasad D.D.K., Prasad A.R.K., 1987. Altered δ -aminolaevulinic acid metabolism by lead and mercury in germinating seedlings of Bajra (*Pennisetum typhoideum*). *J. Plant Physiol.*, 127: 241 –249.
- Rajasekaran L.R., Kriedemann P.E., Aspinnall D., Paleg L.G., 1997. Physiological significance of proline and glycinebetaine maintaining photosynthesis during NaCl stress in wheat. In Wang Z.Q., Yuan Y.Z., Ou J.Q., Lin Q.H., Zhang C.F., 2007. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase contribute differentially to proline accumulation in leaves of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings exposed to different salinity. *J. Plant Physiol.*, 164: 695–701.
- Roosens N.H., Willem R., Li Y., Verbruggen I., Biesemans M., Jacobs M. 1999. Proline Metabolism in the Wild-Type and in a Salt-Tolerant Mutant of *Nicotiana glauca* Studied by ¹³C-Nuclear Magnetic Resonance Imaging. *Plant Physiol.*, 121: 1281–1290.
- Smeets K., Ruytinx J., Semane B., Van Belleghem F. Remans T., Van Sanden S., Vangronsveld J., Cuypers A., 2008. Cadmium-induced transcriptional and enzymatic alterations related to oxidative stress. *Environ. Exp. Bot.*, 63: 1–8.
- Smirnoff N., Cumbes Q.J., 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solute. *Phytochem.* 28, 1057–1060.
- Srinivas V., Balasubramanian D., 1995. Proline Is a Protein-Compatible Hydrotrope. *Langmuir*, 11: 2830–2833.
- Van Breusegem F., Dat J.F., 2006. Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiol*, 141: 384–390.
- Venekamp J.H., 1989. Regulation of cytosolic acidity in plants under condition of drought. *Plant Physiol.*, 76: 112–117.
- Venekamp J.H., Lampe J.E., Kout T.M., 1987. Organic acid as a source of drought-induced proline synthesis in field bean plant *Vicia faba*, L. *J. Plant Physiol.* 133: 654–659.
- Voetberg G.S., Sharp R.E., 1991. Growth at the maize primary root at low potential. III. Role of increased proline deposition in osmotic adjustment. *Plant Physiol.*, 96: 1125 – 1130.
- Wulff A., Anttonen S., Heller W., Sandermann H., Karenlampi L., 1996. Ozone sensitivity of scots pine and Norway spruce from northern and local origin to long-term open-field fumigation in central Finland. *Environ. Exp. Bot.*, 36, (2): 209 – 227.
- Zhang C.Z., Lu Q., Verma D.P.S., 1995. Removal of feedback inhibition of D1-pyrroline-5-carboxylate synthase a bifunctional enzyme catalyzing the first two steps of proline biosynthesis in plants. *J Biol. Chem.*, 270: 20491–20496.

- Naumann, J.C., Young, D.R., Anderson, J.E., Leaf chlorophyll fluorescence, reflectance, and physiological response to freshwater and saltwater flooding in the evergreen shrub, *Myrica cerifera*. *Environmental and Experimental Botany*, 63 (2008), 402–409.
- Sharma, S., Study on impact of heavy metal accumulation in *Brachytecium populeum* (Hedw.) B.S.G. Short communication. *Ecological indicators*, 9 (2009), 807–811.
- Wang, Z.Q., Yuan, Y.Z., Ou, J.Q., Lin, Q.H., Zhang, C.F., Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase contribute differentially to proline accumulation in leaves of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings exposed to different salinity. *Journal of Plant Physiology*, 164 (2007), 695-701.
- Ahmad I., Hellebust A., 1988. The relationship between inorganic nitrogen metabolism and proline accumulation in osmoregulatory responses of two euryhaline microalgae. *Plant Physiol.* 88: 348–354.
- Bogomolov, A., Hachey, M., Williams, A., (2005). Software for interactive curve resolution using SIMPLISMA. *Progress in chemometrics research*. PomerantsevAL (ed.). Nova Science Publishers, New York. pp 119–135.
- Leitao L, P Goulas and J-P Biolley (2003). Time-course of Rubisco oxidation in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to a long-term ozone stress. *Plant Science* 165 (3) : 613 – 620.

Annexe 6

Tableau 1 : ANOVA des variables Chl, Prl et Scr chez *Cupressus sempervirens* (1^{ère} série)

| Paramètre | | Σ des carrés | Ddl | Moy. carrés | Fisher | P |
|------------|------------------------------|---------------------|-----|-------------|----------|--------|
| Chl | Entre les groupes | 1310,919 | 4 | 327,730 | 5937,689 | 0.0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 0,828 | 15 | 0,0519 | | |
| | Total | 1311,747 | 19 | | | |
| Prl | Entre les groupes | 0,942 | 4 | 0,235 | 193,718 | 0,0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 0,01823 | 15 | 0,001215 | | |
| | Total | 0,960 | 19 | | | |
| Scr | Entre les groupes | 176442,582 | 4 | 44110,645 | 831,740 | 0.0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 795,512 | 15 | 53,034 | | |
| | Total | 177238,094 | 19 | | | |

Tableau 2: ANOVA des variables Chl, Prl et Scr chez *Cupressus sempervirens* (2^{ème} série)

| Paramètre | | Σ des carrés | Ddl | Moy. carrés | Fisher | P |
|------------|------------------------------|---------------------|-----|-------------|----------|--------|
| Chl | Entre les groupes | 260,842 | 4 | 65,211 | 3614,472 | 0.0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 0,271 | 15 | 0,0180 | | |
| | Total | 261,113 | 19 | | | |
| Prl | Entre les groupes | 1,431 | 4 | 0,358 | 4,804 | 0,0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 1,117 | 15 | 0,07444 | | |
| | Total | 2,547 | 19 | | | |
| Scr | Entre les groupes | 106760,830 | 4 | 26690,208 | 347,914 | 0.0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 1150,724 | 15 | 76,715 | | |
| | Total | 107911,554 | 19 | | | |

Tableau 3 : ANOVA des variables Chl, Prl et Scr chez *Pinus halepensis* (1^{ère} série)

| Paramètre | | Σ des carrés | Ddl | Moy. carrés | Fisher | P |
|------------|------------------------------|---------------------|-----|-------------|-----------|--------|
| Chl | Entre les groupes | 13361,358 | 4 | 3340,340 | 29580,735 | 0.0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 1,694 | 15 | 0,113 | | |
| | Total | 13363,052 | 19 | | | |
| Prl | Entre les groupes | 0,542 | 4 | 0,136 | 291,308 | 0,0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 0,0098 | 15 | 0,00065 | | |
| | Total | 0,549 | 19 | | | |
| Scr | Entre les groupes | 4094,843 | 4 | 1023,711 | 151,926 | 0.0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 101,073 | 15 | 6,738 | | |
| | Total | 4195,917 | 19 | | | |

Tableau 4 : ANOVA des variables Chl, Prl et Scr chez *Pinus halepensis* (2^{ème} série)

| Paramètre | | Σ des carrés | Ddl | Moy. carrés | Fisher | P |
|------------|------------------------------|---------------------|-----|-------------|----------|--------|
| Chl | Entre les groupes | 1847,343842 | 4 | 461,233 | 2207,233 | 0.0001 |
| | A l'intérieur du grpe | 3,139 | 15 | 0,209 | | |
| | Total | 1850,482 | 19 | | | |
| Prl | Entre les groupes | 0,172 | 4 | 0,0431 | 1,720 | 0,198 |
| | A l'intérieur du grpe | 0,376 | 15 | 0,0506 | | |
| | Total | 0,548 | 19 | | | |
| Scr | Entre les groupes | 128389,308 | 4 | 32097,327 | 1,740 | 0.194 |
| | A l'intérieur du grpe | 276770,098 | 15 | 18451,340 | | |
| | Total | 405159,406 | 19 | | | |

Tableau 5 : Coordonnées de l'Analyse en Composantes Principales pour les variables Chl, Prl et Scr.

| Station | Individu | Axe 1 | | Axe 2 | | Axe 3 | |
|-----------|-------------|---------|------------------|---------|------------------|---------|------------------|
| | | Coord. | Cos ² | Coord. | Cos ² | Coord. | Cos ² |
| S1 | 1 (Pin) | 0,3316 | 0,1323 | 0,7200 | 0,6238 | -0,4502 | 0,2439 |
| | 2 (Cyprès) | -0,0283 | 0,0008 | -0,9947 | 0,9948 | -0,0660 | 0,0044 |
| S2 | 3 (Pin) | -0,8797 | 0,9326 | -0,0743 | 0,0067 | 0,2245 | 0,0607 |
| | 4 (Cyprès) | -0,6555 | 0,2627 | -0,0980 | 0,7373 | 0,0005 | 0,0000 |
| S3 | 5 (Pin) | -0,9545 | 0,7880 | 0,4094 | 0,1450 | 0,2784 | 0,0670 |
| | 6 (Cyprès) | -1,0718 | 0,9955 | -0,0532 | 0,0025 | -0,0485 | 0,0020 |
| S4 | 7 (Pin) | -0,4259 | 0,1804 | 0,6611 | 0,4245 | -0,6225 | 0,3852 |
| | 8 (Cyprès) | -0,8106 | 0,5831 | -0,4873 | 0,2107 | -0,4820 | 0,2062 |
| S5 | 9 (Pin) | -0,5293 | 0,4246 | 0,2033 | 0,0626 | 0,5816 | 0,5127 |
| | 10 (Cyprès) | 0,3933 | 0,0156 | -3,1234 | 0,9842 | -0,0459 | 0,0002 |

Coord. : Coordonnées des individus sur les axes principaux ;
 Cos² : Cosinus carrés (Qualité de la représentation).

