

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

BADJI MOKHTAR –ANNABA UNIVERSITY



UNIVERSITE BADJI MOKHTAR
ANNABA

جامعة باجي مختار
- عنابة -



Faculté des Sciences
Département de Biologie

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat

**Evaluation du risque Toxicologique et Ecotoxicologique
des sols contaminés par les métaux lourds**

Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Toxicologie Environnementale

Par : Mlle BENHALIMA Hadia

DIRECTRICE DE THÈSE : SBARTAI Hana Prof. U.B.M. ANNABA

Devant le jury

PRESIDENT	OUALI Kheireddine	Prof. U. BADJI MOKHTAR-ANNABA
EXAMINATRICE	GRARA Nedjoud	Prof. U. 8 MAI 1945-GUELMA
EXAMINATRICE	SOUIKI Lynda	Prof. U. 8 MAI 1945-GUELMA
EXAMINATEUR :	SLIMANI AbdeRachid	MCA U. BADJI MOKHTAR-ANNABA

Année universitaire : 2023/2024



Remerciements

Des simples remerciements ne sont pas suffisants pour exprimer toute ma reconnaissance à ma directrice de thèse, Pr. SBARTAI Hana. Je suis extrêmement reconnaissante de sa disponibilité, de ses compétences scientifiques, de ses qualités humaines, de ses précieux conseils et de l'attention particulière qu'elle a portée à ce projet de thèse. Je n'oublierai jamais nos échanges au temps d'attente à l'aéroport, où, en dehors de la recherche, nous avons discuté diverses expériences personnelles et professionnelles. Cette discussion m'a motivé à travailler davantage et à faire les meilleurs efforts possibles. Un vif hommage à elle pour ses encouragements constants. Merci pour tout !

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers le professeur OUALI Kheireddine pour avoir présidé le jury avec compétence et impartialité. Votre expertise dans le domaine a été d'une aide inestimable tout au long du processus d'évaluation.

J'aimerais exprimer mes remerciements les plus chaleureux à une femme remarquable, très passionnée par son travail, Madame le Professeur SBARTAI Ibtissem, pour sa détermination à faire partager son savoir, pour son aide et ses conseils avisés qu'elle a pu me promulguer durant ma formation doctorale.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance envers Dr. GRARA Nedjoud et Dr. SOUIKI Lynda, professeures à l'université 8 Mai 1945-Guelma, ainsi que Dr. SLIMANI AbdeRachid, maître de conférence A à l'université Badji Mokhtar-Annaba, pour leur précieuse contribution à l'évaluation de ma thèse. Vos commentaires éclairés et votre expertise ont grandement contribué à améliorer la qualité de ma recherche.

Je désire également présenter à tous les personnels de l'institut national de la protection des végétaux (INPV), particulièrement Fouzia, Moufida, et Lamis, l'expression de ma plus profonde reconnaissance.

Mes vifs remerciements s'étendent aux chefs de service de division production SONATRACH, qui ont pris en charge les frais relatifs à ma formation et mon séjour à Hassi Messaoud.

Mes sincères gratitudes au directeur du Centre de Recherche et développement de SONATRACH et son équipe du département environnement pour leur accueil aimable.

Un remerciement tout particulier à mes collègues, et à tous les responsables des laboratoires qui ont contribué à leur manière au bon déroulement de ce travail.

Mes derniers remerciements s'adressent à ma chère mère, à mes chères sœurs, pour leur soutien affectif sans faille.



Dédicaces



... 

À la mémoire de mon père

À ma mère

À mes deux sœurs « Affaf et Narimene »

Table des matières

Résumés

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale..... 1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique 5

1. Les métaux lourds dans les sols 6

1.1. La contamination des sols..... 6

1.2. Cas des métaux lourds 6

1.2.1. Définition 6

1.2.2. Caractérisation des métaux lourds..... 7

1.2.3. Origine des métaux présents dans le sol..... 7

1.2.4. Comportement des métaux lourds dans le sol 11

1.2.5. Paramètres influençant la mobilité des métaux lourds dans le sol 14

2. Stress oxydant 13

2.1. Définition..... 13

2.2. Les espèces réactives de l'oxygène 14

2.3. Sources des ERO 14

2.4. Les mécanismes de défenses antioxydants 15

2.4.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques 15

2.4.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques 16

3. Evaluation et gestion des risques pour les sols contaminés 18

3.1. Notions..... 18

3.2. Les étapes de l'évaluation du risque 19

3.2.1. Identification du danger..... 19

3.2.2. Caractérisation toxicologique..... 20

3.2.3. Estimation de l'exposition..... 20

3.2.4. Estimation du risque..... 21

Chapitre 2 : Matériel et méthodes 22

1. Zone d'étude 23

1.1. Présentation du cadre géographique 23

1.2.	Présentation des parcelles expérimentales.....	24
Partie 1 : Caractérisation du sol et analyse des métaux lourds dans divers échantillons environnementaux.....		25
1.	Prélèvement des échantillons.....	25
1.1.	Sol.....	25
1.2.	Eau.....	26
1.3.	Végétation.....	26
1.4.	Vers de terre.....	26
2.	Prétraitement des échantillons.....	26
2.1.	Sol.....	27
2.2.	Eau.....	27
2.3.	Végétation.....	27
2.4.	Vers de terre.....	27
3.	Analyse physico-chimique du sol.....	27
3.1.	Mesure du pH, norme AFNOR NF X31-103.....	28
3.2.	Analyse granulométrique, norme AFNOR NF X31-107.....	28
3.3.	Matière organique, norme NF ISO 10694.....	28
3.4.	Détermination de la teneur en carbone total (C), norme AFNOR NF X31-109 (1993)	28
3.5.	Détermination de la teneur totale en azote (N), norme AFNOR NF ISO 11261 (1995)	28
3.6.	Détermination du phosphore total (P), norme AFNOR NF ISO 14672 (2005).....	28
3.7.	Mesure de la conductivité électrique (CE), norme AFNOR NF ISO 11265 (1994) .	28
4.	Analyse fongique du sol.....	29
4.1.	Isolement des champignons.....	29
4.1.1.	Préparation des milieux de culture.....	29
4.1.2.	Préparation des suspensions-dilutions.....	29
4.2.	Purification.....	30
4.3.	Identification des isolats fongiques.....	30
4.3.1.	Identification macroscopique.....	30
4.3.2.	Identification microscopique.....	30
5.	Analyse des métaux lourds.....	31
5.1.	Extraction des échantillons.....	31
5.2.	Analyse spectrométrique des échantillons.....	31

5.3.	Critères de qualité pour les métaux sélectionnés	32
5.3.1.	Critères de qualité pour les sols agricoles	32
5.3.2.	Critères de qualité pour les eaux souterraines	33
5.3.3.	Valeurs des éléments-traces dans les végétaux	33
6.	Analyse statistique	34
Partie 2 : Evaluation de la toxicité des métaux lourds chez des modèles biologiques.....		35
1.	Etude in situ	35
1.1.	Matériel biologique.....	35
1.2.	Prélèvement des échantillons.....	35
1.3.	Identification des vers de terre.....	36
1.4.	Sélection de l'espèce.....	36
1.5.	Position systématique du ver de terre choisi.....	36
1.6.	Préparation des tissus.....	37
2.	Etude in vivo	37
2.1.	Matériel biologique.....	37
2.1.1.	Le blé dur <i>Triticum durum</i> Desf.....	37
2.1.2.	Le ver de terre <i>Aporrectodea giardi</i>	37
2.2.	Matériel chimique.....	38
2.3.	Conduite de l'essai.....	38
2.3.1.	Cas du blé dur.....	38
2.3.2.	Cas du ver de terre.....	39
3.	Paramètres étudiés.....	42
3.1.	Paramètres germinatifs et morphométriques du blé in vivo	42
3.1.1.	Taux de germination (TG).....	42
3.1.2.	Longueur moyenne de la première feuille (LMF).....	42
3.2.	Paramètres biochimiques	42
3.2.1.	Biomarqueurs non enzymatiques	42
3.2.2.	Biomarqueurs enzymatiques	44
3.3.	Dosage des métaux lourds dans les tissus végétaux in vivo	46
3.4.	Analyse statistique.....	46
Partie 3 : Evaluation des risques sanitaires, toxicologiques et écotoxicologiques (une approche intégrée).....		47
1.	Evaluation du risque sanitaire des résidents et agriculteurs exposés	47
1.1.	Conception de l'enquête	47

1.2.	Population étudiée	47
1.3.	Analyse statistique	48
2.	Evaluation du risque toxicologique.....	48
2.1.	Identification du danger	48
2.2.	Caractérisation toxicologique	49
2.2.1.	Valeurs de référence pour des effets non cancérogènes.....	49
2.2.2.	Coefficients de cancérogénicité.....	49
2.3.	Estimation de l'exposition	50
2.3.1.	Paramètres d'exposition	50
2.3.2.	La fréquence d'exposition.....	51
2.3.3.	Équations utilisés.....	52
2.4.	Estimation de risques toxicologiques	54
2.4.1.	Risques toxicologiques non cancérogènes	54
2.4.2.	Calcul des doses d'exposition	54
2.4.3.	Risques toxicologiques cancérogènes	54
3.	Evaluation du risque écotoxicologique	55
3.1.	Récepteurs biologiques retenus	55
3.2.	Schéma conceptuel d'exposition	56
3.3.	Valeurs écotoxicologiques de référence pour les récepteurs sélectionnés	56
3.4.	Estimation des expositions pour les plantes et les invertébrés terrestres	57
3.5.	Calcul des risques écotoxicologiques formels.....	57
Chapitre 3 : Résultats		58
Partie 1 : Caractérisation du sol et analyse des métaux lourds dans divers échantillons environnementaux.....		59
1.	Analyse physico-chimique du sol	59
2.	Analyse fongique du sol.....	60
3.	Analyse des métaux lourds	62
3.1.	Concentrations calculées des contaminants.....	62
3.1.1.	Concentrations des métaux lourds dans les sols.....	62
3.1.2.	Concentrations des métaux lourds dans les eaux souterraines	63
3.1.3.	Concentrations de métaux lourds bioaccumulés dans les cultures végétales.....	63
3.1.4.	Concentrations de métaux lourds bioaccumulés dans les vers de terre.....	64
3.2.	Analyse comparative des concentrations calculées et les normes de qualité	64

3.2.1.	Comparaison entre les concentrations obtenues et les critères de qualité pour les sols	64
3.2.2.	Comparaison entre les concentrations obtenues et les critères de qualité pour les eaux souterraines.....	65
3.2.3.	Comparaison entre les concentrations obtenues et les critères de qualité pour les végétaux	66
Partie 2 : Evaluation de la toxicité des métaux lourds chez des modèles biologiques.....		69
1.	Etude in situ	69
1.1.	Cas du blé dur	69
1.1.1.	Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux de protéines totales	69
1.1.2.	Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux de GSH.....	70
1.1.3.	Effets des mixtures de métaux lourds sur le contenu en SH _T	70
1.1.4.	Effets des mixtures de métaux lourds sur la teneur en PCs.....	71
1.1.5.	Effets des mixtures métalliques sur l'activité CAT.....	71
1.1.6.	Effets des mixtures métalliques sur l'activité LOX	72
1.2.	Cas du ver de terre	73
1.2.1.	Effets sur le contenu en protéines totales	73
1.2.2.	Effets sur le taux de GSH	73
1.2.3.	Effets sur l'évolution du taux de MT	74
1.2.4.	Effets sur l'activité enzymatique du CAT	75
1.2.5.	Effets sur la variation de l'activité LOX	75
2.	Etude in vivo	76
2.1.	Cas du blé dur	76
2.1.1.	Effets des mixtures de métaux lourds sur la croissance du blé	76
2.1.2.	Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux de protéines totales	77
2.1.3.	Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux de GSH.....	78
2.1.4.	Effets des mixtures de métaux lourds sur le contenu en SH _T	79
2.1.5.	Effets des mixtures de métaux lourds sur la teneur en PCs.....	79
2.1.6.	Effets des mixtures métalliques sur l'activité CAT.....	80
2.1.7.	Effets des mixtures métalliques sur l'activité LOX	81
2.1.8.	Phytoaccumulation des métaux lourds dans le blé dur in vivo	81
2.2.	Cas du ver de terre	82
2.2.1.	Effets sur le taux de protéines totales	82
2.2.2.	Effets sur l'évolution du taux de GSH	83

2.2.3.	Effets sur la variation du taux de MT.....	83
2.2.4.	Effets sur la variation de l'activité CAT	84
2.2.5.	Effets sur l'activité enzymatique du LOX.....	85
Partie 3 : Evaluation des risques sanitaires, toxicologiques et écotoxicologiques (une approche intégrée).....		86
1.	Evaluation du risque sanitaire des résidents et agriculteurs exposés	86
1.1.	Caractéristiques de l'échantillon.....	86
1.1.1.	Répartition hommes/femmes.....	86
1.1.2.	Répartition de l'échantillon par groupes d'âge	87
1.2.	Aspects environnementaux.....	87
1.2.1.	Environnement et qualité de vie résidentielle	87
1.2.2.	Environnement et qualité de vie au travail en agriculture.....	90
1.3.	Etat de santé de l'échantillon.....	92
1.3.1.	Prévalence du tabagisme	92
1.3.2.	Répartition des populations selon leur activité sportive.....	93
1.3.3.	Répartition des populations selon leurs habitudes alimentaires.....	93
1.3.4.	Répartition des populations par type d'eau consommé.....	94
1.3.5.	Répartition des maladies	94
1.3.6.	Répartition des symptômes	95
1.4.	La relation entre l'état de santé et pollution industrielle d'El-Karma (Annaba)	95
2.	Evaluation du risque toxicologique.....	98
2.1.	Estimation de l'exposition	98
2.1.1.	Estimation de l'exposition pour le scénario 1	98
2.1.2.	Estimation de l'exposition pour le scénario 2	100
2.2.	Estimation de risques toxicologiques	106
2.2.1.	Risques toxicologiques non cancérogènes	106
2.2.2.	Calcul des doses d'exposition	114
2.2.3.	Risques toxicologiques cancérogènes	117
3.	Evaluation du risque écotoxicologique	121
3.1.	Calcul des risques écotoxicologiques formels.....	121
4.	Synopsis des risques calculés.....	122
Chapitre 4 : Discussion générale.....		128
Partie 1 : Caractérisation du sol et analyse des métaux lourds dans divers échantillons environnementaux		129

Partie 2 : Evaluation de la toxicité des métaux lourds chez des modèles biologiques.....	134
Partie 3 : Evaluation des risques sanitaires, toxicologiques et écotoxicologiques (une approche intégrée).....	150
Chapitre 5 : Conclusion et perspectives	154
Références bibliographiques	158
Annexes	192



Résumés



المخلص

إن تقييم المخاطر (RE) هو عملية علمية تأخذ حاليًا بعدًا دوليًا. من أجل استخدام أحدث الأساليب في إدارة التربة الملوثة بالمعادن الثقيلة، تهدف هذه الدراسة إلى تقييم المخاطر السمية للمقيمين الذين يعيشون بالقرب والمزارعين العاملين في الموقع الملوث، وكذلك المخاطر السمية البيئية للأنواع النباتية والحيوانية. تعرضوا لهذا التلوث ببلدية الكرمة بولاية عنابة. وقد كان هذا الأخير موضوع دراسة متعمقة بسبب المشاكل البيئية الناجمة بشكل رئيسي عن التصريفات من صناعة الصلب القريبة من منطقة الحجار.

تم إجراء تحليل المعادن للتأكد من وجود كميات كبيرة (< معايير جودة التربة الزراعية) من المعادن في محلول التربة للمواقع الأربعة (S1، S2، S3، S4) المختارة للتجربة. أتاحت لنا النتائج اختيار المعادن الثقيلة التي تجاوزت قيمها المعايير بشكل كبير، وهي: الكاديوم (Cd)، الكروم (Cr)، النحاس (Cu)، النيكل (Ni)، الحديد (Fe) والمنغنيز (Mn). وبالمثل، تم إجراء تحليل للمعادن في المياه الجوفية جنباً إلى جنب مع التصريف الصناعي وكذلك في العديد من المستقبلات البيولوجية (القمح وديدان الأرض). كل هذه البيانات (في الموقع) أتاحت لنا إجراء تقييم للمخاطر السمية والسمية البيئية لمواقعنا الملوثة بالمعادن الثقيلة من خلال اتباع المراحل الأربع لنهج الطاقة المتجددة. وأظهرت النتائج أن وجود المعادن في التربة يمثل خطراً مقلقاً على الصحة العامة والبيئة، الأمر الذي يجب اتخاذ تدابير للحد من هذه التهديدات.

وفي الوقت نفسه، أجرينا اختبارات حيوية (في الجسم الحي) حيث قمنا بإعادة إنتاج تلوث التربة مع الأخذ بعين الاعتبار المعادن الثقيلة الستة المختارة للتجربة. ولهذا قمنا بإصلاح أربعة مخاليط من المعادن (M1، M2، M3، M4) التي يكون تركيزها مجرد استقراء للكميات المقاسة فعلياً في الحقل (S1، S2، S3، S4). تم استخدام مجموعة من المؤشرات الحيوية لتقييم القدرة السامة لهذه الخلائط على نموذجين بيولوجيين (*Aporrectodea giardi* و *Triticum durum Desf.*). وأظهرت النتائج أن وجود تركيزات عالية من العناصر المعدنية النادرة في التربة يحفز الاستجابات الخلوية في الكائنات الحية المكشوفة، مما يؤدي إلى تنشيط آليات الدفاع لاستعادة التوازن الخلوي. يمكن اعتبار النوع الذي تمت دراسته، وهو *Aporrectodea giardi*، نموذجاً ممتازاً لتقييم المخاطر السمية البيئية للتربة الملوثة بمخاليط المعادن، ويمكن اقتراح استخدامه في المعالجة الحيوية نظراً لقدرته على تحمل ظروف الإجهاد هذه.

الكلمات المفتاحية: تقييم المخاطر، المخاطر السمية، المخاطر السمية البيئية، التربة الملوثة، المعادن الثقيلة، المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي، نظام مضادات الأكسدة.

Résumé

L'évaluation des risques (ER) est une démarche scientifique qui prend actuellement une ampleur internationale. Afin d'utiliser les approches les plus récentes dans la gestion des sols contaminés par les métaux lourds, la présente étude vise à évaluer les risques toxicologiques pour les résidents vivant à proximité et les agriculteurs opérant au site pollué, ainsi que les risques écotoxicologiques pour les espèces végétales et animales exposées à cette contamination dans la commune d'El-Karma, wilaya d'Annaba. Cette dernière a fait l'objet d'une étude approfondie en raison des problèmes environnementaux causés principalement par les rejets de l'industrie sidérurgique d'El-Hadjar, située à proximité.

Une analyse des métaux a été effectuée pour confirmer la présence en grande quantité (> aux normes de qualité des sols agricoles) des métaux dans la solution du sol des quatre sites (S1, S2, S3 et S4) retenus pour l'expérimentation. Les résultats nous ont permis de sélectionner les métaux lourds dont les valeurs dépassaient largement les normes, à savoir : le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le fer (Fe) et le manganèse (Mn). De même, une analyse des métaux dans les eaux souterraines juxtaposées à la décharge industrielle ainsi que dans plusieurs récepteurs biologiques (blé et vers de terre) a été réalisée. Toutes ces données (in situ) nous ont permis de réaliser une évaluation du risque toxicologique et écotoxicologique de nos sites contaminés par les métaux lourds en suivant les quatre étapes de la démarche d'ER. Les résultats montrent que la présence des métaux dans les sols présente un risque inquiétant pour la santé publique et l'environnement, pour lequel des mesures devront être prises pour réduire les menaces.

En parallèle, nous avons effectué des biotests (in vivo) ou nous avons reproduit la contamination des sols en tenant compte des six métaux lourds retenus pour l'expérimentation. Pour cela nous avons préparé quatre mélanges de métaux (M1, M2, M3, M4) dont leur concentration n'est qu'une extrapolation des quantités réellement mesurées sur le terrain (S1, S2, S3, S4). Une batterie de biomarqueurs a été utilisée pour évaluer le potentiel toxique de ces mixtures sur deux modèles biologiques (*Triticum durum* Desf. et *Aporrectodea giardi*). Les résultats montrent que la présence de concentrations élevées des éléments traces métalliques dans les sols induit des réponses cellulaires chez les organismes exposés, conduisant à l'activation de mécanismes de défense pour restaurer l'homéostasie cellulaire. L'espèce étudiée, *Aporrectodea giardi*, pourrait être considérée comme un excellent modèle pour l'évaluation du risque écotoxicologique des sols contaminés par des mélanges de métaux, et pourrait être proposée pour son utilisation en bioremédiation en raison de sa capacité à tolérer ces conditions de stress.

Mots clés: Évaluation de risques, risques toxicologiques, risques écotoxicologiques, sols contaminés, métaux lourds, biomarqueurs de stress oxydant, système antioxydant.

Abstract

Risk assessment (RA) is a scientific process that is currently gaining international momentum. In order to apply the latest approaches to the management of soil contaminated by heavy metals, the present study aims to assess the toxicological risks for nearby residents and farmers operating on the polluted site, as well as the ecotoxicological risks for plant and animal species exposed to this contamination in the commune of El-Karma, wilaya of Annaba. The latter was the subject of an in-depth study due to the environmental problems caused mainly by discharges from the nearby El-Hadjar steel industry.

A metals analysis was carried out to confirm the presence of large quantities (> agricultural soil quality standards) of metals in the soil solution at the four sites (S1, S2, S3 and S4) selected for experimentation. The results enabled us to select those heavy metals whose values far exceeded the standards, namely: cadmium (Cd), chromium (Cr), copper (Cu), nickel (Ni), iron (Fe) and manganese (Mn). Metal analysis was also carried out in the groundwater adjacent to the landfill site, as well as in several biological receptors (wheat and earthworms). All these (in situ) data enabled us to carry out a toxicological and ecotoxicological risk assessment of our sites contaminated by heavy metals, following the four stages of the RE approach. The results show that the presence of metals in soils presents a worrying risk to public health and the environment, for which measures will have to be taken to reduce the threats.

In parallel, we carried out biotests (in vivo) in which we reproduced soil contamination, taking into account the six heavy metals selected for the experiment. To do this, we prepared four metal mixtures (M1, M2, M3, M4) whose concentration was merely an extrapolation of the quantities actually measured in the field (S1, S2, S3, S4). A battery of biomarkers was used to assess the toxic potential of these mixtures on two biological models (*Triticum durum* Desf. and *Aporrectodea giardi*). The results show that the presence of high concentrations of metallic trace elements in soils induces cellular responses in exposed organisms, leading to the activation of defense mechanisms to restore cellular homeostasis. The species studied, *Aporrectodea giardi*, could be considered an excellent model for assessing the ecotoxicological risk of soils contaminated by mixtures of metals, and could be proposed for use in bioremediation due to its ability to tolerate such stressful conditions.

Keywords: Risk assessment, toxicological risks, ecotoxicological risks, contaminated soils, heavy metals, biomarkers of oxidative stress, antioxidant system.

Liste des figures

Figure 1: Sources, transferts et risques des éléments traces métalliques sur l'environnement (Qasim, 2015).....	11
Figure 2: Schématisation de la balance oxydants/antioxydants (Pourrut, 2008).	13
Figure 3: La production des ERO (Favier, 2003).....	14
Figure 4: Situation géographique de la zone d'El-Karma, El-Hadjar (Source modifiée Ferroum, 2015).....	23
Figure 5: Le plan parcellaire de la ferme pilote Chaibi Larbi (Source modifiée Géomètre Expert foncier Kara M. S., 2016).....	24
Figure 6: Prélèvement en diagonal (MVAD - Cirad, 2019).....	26
Figure 7: Isolement des champignons sur milieu PDA (Benhalima H., 2019).....	29
Figure 8: Repiquage (Benhalima H., 2019).	30
Figure 9: ICP-OES OPTIMA 8000 PERKIN-ELMER (Benhalima H., 2019).....	31
Figure 10: Elevage des vers de terre (Benhalima H., 2021).	35
Figure 11: <i>Aporrectodea caliginosa</i> (Benhalima H., 2021).....	36
Figure 12: Elevage des vers de terre (Benhalima H., 2020).	40
Figure 13: <i>Aporrectodea giardi</i> (Benhalima H., 2020).....	40
Figure 14: Dispositif expérimental (Benhalima H., 2020).....	41
Figure 15: Dispositif de jeun des vers de terre avant dissection (Benhalima H., 2020).	41
Figure 16: Schéma conceptuel de contamination des sols par les métaux lourds dans la région d'El-Karma, Annaba (Benhalima H., 2021).....	56
Figure 17: Effets des mixtures métalliques sur le contenu des protéines totales dans les feuilles et les racines du blé in situ.....	69
Figure 18: Effets des mixtures de métaux lourds sur les concentrations de GSH chez le blé tendre (<i>Triticum aestivum</i>) et le blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf.) in situ.....	70
Figure 19: Evolution de la teneur en thiols non protéiques acido-solubles chez le blé exposé à des mixtures métalliques in situ.	70
Figure 20: Variation du contenu en phytochélatines chez les plantes du blé sous stress métallique in situ.	71
Figure 21: Effets des métaux sur l'évolution de l'activité enzymatique de la catalase chez le blé in situ.	71
Figure 22: Modifications de l'activité LOX dans les feuilles et les racines de blé in situ.	72
Figure 23: Effets des sols contaminés par les métaux lourds sur le contenu en protéines totales chez les vers de terre <i>Aporrectodea caliginosa</i>	73

Figure 24: Variation du taux de glutathion chez le ver de terre <i>Aporrectodea caliginosa</i> exposé aux métaux lourds in situ.	73
Figure 25: Effets des métaux lourds sur la variation du taux de MT chez les vers de terre <i>A. caliginosa</i>	74
Figure 26: Evolution de l'activité CAT chez les vers de terre en fonction de la teneur en métaux lourds dans les sols.	75
Figure 27: Effets des mixtures métalliques sur l'activité lipoxigénase chez le ver de terre <i>Aporrectodea caliginosa</i> in situ.	75
Figure 28: Effets des mixtures de métaux lourds sur la germination des plantes du blé dur. ..	76
Figure 29: Variations de la longueur de la première feuille des plantes de blé traitées avec des mixtures de métaux lourds.	77
Figure 30: Effets des mixtures métalliques sur le contenu des protéines totales dans les feuilles et les racines du blé.....	77
Figure 31: Effets des mixtures de métaux lourds sur les concentrations de GSH dans le blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf.).	78
Figure 32: Mesure des composés thiols non protéiques acido-solubles chez le <i>Triticum durum</i> exposé à des mixtures métalliques.	79
Figure 33: Variation du contenu en phytochélatines chez les plantes du blé sous stress métallique.....	79
Figure 34: Effets des métaux combinés sur l'évolution de l'activité enzymatique de la catalase chez le blé dur.....	80
Figure 35: L'activité antioxydante de la LOX dans les feuilles et les racines de blé en réponse à l'exposition aux métaux.	81
Figure 36: Effets des mixtures métalliques sur le taux de protéines totales chez les vers de terre en fonction du temps.	82
Figure 37: Effets des mixtures métalliques sur le taux de GSH chez le ver de terre <i>Aporrectodea giardi</i>	83
Figure 38: Variation du taux de MT chez le ver de terre <i>Aporrectodea giardi</i> exposé aux mixtures métalliques.	83
Figure 39: Effets des métaux lourds sur la variation de l'activité CAT chez les vers de terre pendant la durée d'exposition.....	84
Figure 40: Effets des mixtures métalliques sur l'évolution de l'activité enzymatique du LOX chez le ver de terre <i>Aporrectodea giardi</i>	85
Figure 41: Répartition de la population résidente et des agriculteurs selon le sexe.....	86
Figure 42: Répartition des résidents et des agriculteurs selon l'âge.	87
Figure 43: Depuis quand habitez-vous dans ce logement ?	87
Figure 44: Sensation de mauvaises odeurs venant du complexe industriel.	88

Figure 45: Problème d'humidité dans les résidences.	88
Figure 46: Fermeture des fenêtres face au problème des substances odorantes émises.....	89
Figure 47: Activité des enfants dans les champs proches du site industriel.....	89
Figure 48: Durée d'exercice de la profession agriculteur.	90
Figure 49: Heures de travail par jour.....	90
Figure 50: Utilisation de l'eau issue de puits pour l'irrigation agricole.....	91
Figure 51: Utilisation des techniques culturales traditionnelles.....	91
Figure 52: Les équipements de protection individuelle (EPI) utilisés.	92
Figure 53: Répartition des résidents et des agriculteurs par consommation de tabac.....	92
Figure 54: Répartition des résidents et des agriculteurs selon leur activité sportive.	93
Figure 55: Répartition des résidents et des agriculteurs selon leur consommation des légumes et/ou des fruits cultivés dans les sols à proximité.	93
Figure 56: Répartition des résidents et des agriculteurs par type d'eau consommée.....	94
Figure 57: Répartition de certaines pathologies chez les résidents et les agriculteurs.....	94
Figure 58: Répartition des symptômes chez les résidents et les agriculteurs.....	95
Figure 59: Prévalence des pathologies enregistrées par rapport aux sous-échantillons étudiés.	97

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification de quelques métaux lourds selon leur densité et leur toxicité (Bliefert et Perraud, 2003).....	7
Tableau 2: Composition chimique des roches en éléments traces (ppm) (Tardy, 1966).	8
Tableau 3: Flux des métaux lourds dans l'environnement (tonne/an) (Adjagodo et <i>al.</i> , 2016; Outron et <i>al.</i> , 2016).	8
Tableau 4: Différentes normes et références de teneurs totales en métaux lourds dans les sols (en mg/kg) (Baize et Tercé, 2002).....	32
Tableau 5: Teneurs critiques en oligo-éléments dans les sols en mg/kg (Fageria et <i>al.</i> , 2002).	32
Tableau 6: Critères de qualité pour les eaux souterraines (en µg/L).	33
Tableau 7: Teneurs moyennes internationales en ETM dans les végétaux (en mg/kg de matière sèche).....	33
Tableau 8: Systématique du ver de terre <i>Aporrectodea caliginosa</i> (Savigny, 1826).....	36
Tableau 9: Classification botanique du blé dur (Feillet, 2000).	37
Tableau 10: La position systématique <i>Aporrectodea giardi</i> (Ribaucourt, 1901).....	37
Tableau 11: Composition des mixtures testées.	38
Tableau 12: Solution nutritive modifiée (Hooshang and Jan-Erik, 1996).	39
Tableau 13: Conditions expérimentales.	40
Tableau 14: Valeurs de référence (VTR) pour des effets non cancérogènes.	49
Tableau 15: Coefficients de cancérogénicité (CC) pour certains métaux lourds.	50
Tableau 16: Paramètres d'exposition de la population en fonction des différents groupes d'âge.....	50
Tableau 17: Fractions de contaminant absorbées par la peau chez l'humain.	53
Tableau 18: Valeurs de référence de métaux pour des plantes et les vers de terre.	56
Tableau 19: Paramètres physico-chimiques des sols.	59
Tableau 20: Les champignons identifiés des sols étudiés.	60
Tableau 21: Composition générale de la microflore de chaque sol (station El-Karma).	61
Tableau 22: Concentrations des métaux lourds dans les sols (en mg métal/kg de sol) en fonction des différentes périodes de prélèvement de l'année 2019 et 2021.....	62
Tableau 23: Concentrations des métaux lourds dans les eaux souterraines (en µg/L) en fonction des différentes périodes de prélèvement.	63
Tableau 24: Concentrations des métaux lourds dans les plantes (en mg/kg) en fonction des différentes périodes de prélèvement.....	63

Tableau 25: Concentrations des métaux lourds dans les vers de terre (en mg/kg) en 2021.....	64
Tableau 26: Concentrations obtenues par rapport aux critères de qualité A pour les sols naturels (en mg métal/kg de sol).	64
Tableau 27: Concentrations obtenues par rapport aux normes de qualité pour l'eau d'irrigation (en µg/L).....	65
Tableau 28: Concentrations obtenues par rapport aux normes de qualité pour l'eau de consommation (en µg/L).	65
Tableau 29: Concentrations obtenues par rapport aux normes de qualité pour les eaux souterraines (en µg/L).	66
Tableau 30: Concentrations obtenues par rapport aux normes mondiales pour les plantes (en mg métal/kg de sol).	66
Tableau 31: Concentrations des métaux lourds dans les différentes parties du blé dur in vivo (en mg/kg) en fonction des mixtures métalliques.	81
Tableau 32: Estimation de l'exposition à des métaux par inhalation de poussières de sol chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.....	98
Tableau 33: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion de sol chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.	98
Tableau 34: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion d'eau potable chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.	99
Tableau 35: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion des aliments chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.	99
Tableau 36: Estimation de l'exposition à des métaux par contact cutané avec le sol chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.	100
Tableau 37: Estimation de l'exposition à des métaux par inhalation de poussières de sol chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.	100
Tableau 38: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion de sol chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.....	102
Tableau 39: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion d'eau potable chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.	103
Tableau 40: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion des aliments chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.	104
Tableau 41: Estimation de l'exposition à des métaux par contact cutané avec le sol chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.	105
Tableau 42: Risques toxicologiques non cancérogènes de métaux par inhalation de poussières de sol chez la population générale.....	106
Tableau 43: Risques toxicologiques non cancérogènes de métaux par ingestion de sol chez la population générale.	108

Tableau 44: Risques toxicologiques non cancérigènes de métaux par ingestion d'eau potable chez la population générale.	110
Tableau 45: Risques toxicologiques non cancérigènes de métaux par ingestion de divers aliments chez la population générale.....	111
Tableau 46: Doses moyennes d'exposition par inhalation de poussières de sol à vie chez les deux scénarios pour l'année 2019 et 2021.	114
Tableau 47: Doses moyennes d'exposition par ingestion de sol à vie chez les deux scénarios pour l'année 2019 et 2021.....	115
Tableau 48: Doses moyennes d'exposition par ingestion d'eau potable à vie chez les deux scénarios pour l'année 2019 et 2021.	115
Tableau 49: Doses moyennes d'exposition par ingestion de divers aliments à vie chez les deux scénarios pour l'année 2019 et 2021.	116
Tableau 50: Risques additionnels de cancers (scénarios 1 et 2) par inhalation de poussières de sol pour l'année 2019 et 2021.	117
Tableau 51: Risques additionnels de cancers (scénarios 1 et 2) par ingestion de sol pour l'année 2019 et 2021.	118
Tableau 52: Risques additionnels de cancers (scénarios 1 et 2) par ingestion d'eau potable pour l'année 2019 et 2021.....	119
Tableau 53: Risques additionnels de cancers (scénarios 1 et 2) par ingestion de divers aliments pour l'année 2019 et 2021.	120
Tableau 54: Risques écotoxicologiques pour les plantes.	121
Tableau 55: Risques écotoxicologiques pour les vers de terre.....	122
Tableau 56: Synopsis des risques toxicologiques chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.	123
Tableau 57: Synopsis des risques toxicologiques chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021.....	124
Tableau 58: Synopsis des risques écotoxicologiques chez les récepteurs biologiques durant l'année 2019 et 2021.	127

Liste des abréviations

$^1\text{O}_2$: Oxygène singulet
5-HPETE : Acide 5-hydroxyperoxyeicosatétraénoïque
ABA : Abscisic acid
ADN : Acide desoxyribonucléique
AFNOR : Association Française de Normalisation
ANOVA : Analyse de la variance
ANRH : Agence Nationale des Ressources Hydriques
APX : Ascorbate peroxydase
AsA-GSH : Ascorbate-glutathion
ASC : Acide Ascorbique
ATP : Adénosine-Triphosphate
ATSDR : Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BBC : Bleu brillant de coomassie
BSA : Serum Albumin Bovin
C : Carbone Total
CaCl₂ : Chlorure de calcium
CC : Coefficient de Cancérogénicité
CCLS : Coopérative de Céréales et de Légumes secs
CdCl₂ : Chlorure de Cadmium
CE : Conductivité Electrique
CEAEQ : Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec
CEC : Capacité d'échange Cationique
Co²⁺ : Cobalt (2+)
COV : Composés Organiques Volatils
CrCl₂ : Chlorure de Chrome
CRD : Centre de Recherche et Développement
CuSO₄ : Sulfate de Cuivre
DO : Densité Optique
DTNB : 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)
EDTA : Ethylène Diamine Tétracétylique
Eh : Potentiel Redox
ER : Evaluation du risque
ERE : Evaluation du Risque Ecotoxicologique
ERO : Espèces Réactives de l'oxygène
ETM : Eléments Traces Métalliques
FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
FeSO₄ : Sulfate de Fer
GPX : Glutathion Peroxydase
GR : Glutathion Réductase
GSH : Glutathion

GSSG : Glutathion Disulfure
GST : Glutathion-S-Transférase
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
H₃BO₃ : Acide borique
HCl : Acide chlorhydrique
ICP-MS : Spectrométrie de masse à plasma inductif
INPV : Institut National de la Protection des Végétaux
INRA : Institut national de la recherche agronomique
INSERM : Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale
INSPQ : Institut national de santé publique du Québec
IRIS : Integrated Risk Information System
K₂HPO₄ : Hydrogénophosphate de Potassium
KH₂PO₄ : Phosphate de potassium monobasique
KNO₃ : Nitrate de potassium
LMF : Longueur moyenne de la première feuille
LOX : Lipoxygénase
MDDEP : Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs
MEF : Ministère de l'Environnement et de la Faune
MgSO₄ : Sulfate de magnésium
MMT : Méthylcyclopentadiényle Tricarbonyle de Manganèse
MnSO₄ : Sulfate de Manganèse
MO : Matière Organique
N : Azote
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NaK : Alliage de sodium et de Potassium
NiSO₄ : Sulfate de Nickel
NO : Oxyde Nitrique
NP-SH : Hauteur d'aspiration positive nette
NPK : Azote/Phosphore/Potassium
O₂⁻ : Radical Superoxyde
O₃ : Ozone
OH : Radical Hydroxyle
OMS : Organisation mondiale de la Santé
P : Phosphore Total
PCs : Phytochélatines
PDA : Potatoes Dextrose Agar
PUFA : Acides Gras Polyinsaturés
Radd : Risque Additionnel de Cancer
RIVM : Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu
RO : Alkoxyles
ROO : Peroxydes
ROS : Reactifs oxygen species
SH_T : Thiols Non Protéiques Acido-Solubles
SiO₂-SH : Nano-silice à fonction thiol

Sn : Etain

SOD : Superoxyde Dismutase

SSA : Acide Sulfosalysitique

TG : Taux de germination

USEPA : United States Environmental Protection Agency

VESEO : Valeurs Estimées Sans Effet Observé

VTR : Valeurs Toxicologiques de Référence

ZnSO₄ : Sulfate de zinc

-COOH : Groupement Carboxyle

-NH₂ : Groupement Amine

-OH : Groupement Phénol

-SH : Groupement Thiol



Introduction générale



Le sol est une composante fondamentale des écosystèmes qui constitue une ressource naturelle menacée et difficilement renouvelable (Amossé, 2014). La contamination des sols agricoles par les métaux lourds provenant des activités industrielles a fait l'objet d'une attention considérable (Huang *et al.*, 2015; Rasheed *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2020).

En Algérie, aussi bien que dans d'autres régions du pays, la commune d'Annaba est soumise au quotidien à de nombreuses agressions induites par la pollution industrielle, en particulier celle de sidérurgie d'El-Hadjar (Zenati and Messadi, 2010). En effet, le complexe est responsable de l'émission de monoxyde de carbone, de dioxyde de soufre, de poussière..., et de métaux lourds (Stoffers *et al.*, 1986).

De plus, de fortes concentrations en métaux lourds ont été trouvés aux alentours du haut fourneau d'El-Hadjar à Annaba, en raison de la décharge et la dispersion des particules métalliques dans les sols environnants, les cours d'eau et les cultures (Achouri *et al.*, 2017; Debieche, 2002; Hani *et al.*, 2007; Kebir and Bouhadjera, 2011).

Ils sont classés en nutriments essentiels et non essentiels. Certains éléments métalliques, dont le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le fer (Fe), le manganèse (Mn) et le nickel (Ni), sont des oligo-éléments essentiels pour diverses fonctions physiologiques et biochimiques de l'organisme, mais sont souvent toxiques à forte dose (Vamerali *et al.*, 2010). Les métaux lourds non essentiels tels que le plomb (Pb), le mercure (Hg) et le cadmium (Cd) sont hautement toxiques même à de faibles concentrations (Tahoon *et al.*, 2020).

En raison de leur nature non-biodégradable, ces contaminants sont persistants dans l'environnement et s'accumulent dans les tissus des plantes et des animaux, dans les eaux de surface et souterraines ainsi que dans la chaîne alimentaire (Ali *et al.*, 2019; Schneider, 2016), causant de sérieux risques écologiques (Devi and Kumar, 2020; Singh *et al.*, 2011) et sanitaires (Momas *et al.*, 2004).

En effet, l'accumulation de métaux lourds dans les tissus végétaux entraîne un retard de croissance, une inhibition de la photosynthèse, des nécroses et de nombreux impacts physiologiques (Hourri *et al.*, 2020; Paunov *et al.*, 2018). Pour ce qui est des vers de terre, les métaux lourds sont susceptibles de diminuer la survie, la croissance et la reproduction des lombriciens (Parihar *et al.*, 2019; Renu *et al.*, 2020; Yadav *et al.*, 2017), d'inhiber la décomposition de la matière organique (Liu *et al.*, 2020), de provoquer des anomalies histologiques (S. Nayak *et al.*, 2018; Samal *et al.*, 2020), d'altérer le métabolisme énergétique et la respiration cellulaire (Filipiak and Bednarska, 2021; Höckner *et al.*, 2020; Świątek and Bednarska, 2019). En général, ces métaux induisent la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et provoquent un stress oxydatif, favorisant ainsi la peroxydation des lipides et l'oxydation des protéines, et des acides nucléiques (Giannakoula *et al.*, 2021; Laib *et al.*, 2020; ur Rahman *et al.*, 2021).

Pour contrer les effets des métaux lourds, les espèces végétales et animales ont développé un système de défense antioxydant comme mécanisme adaptatif de détoxification (Emamverdian *et al.*, 2015), en utilisant des antioxydants non enzymatiques, ainsi que des systèmes antioxydants enzymatiques (Kafel *et al.*, 2010; Pongrac *et al.*, 2009). Ces

mécanismes antioxydants peuvent être utilisés comme biomarqueurs précoces du stress environnemental pour évaluer la toxicité des métaux lourds (Białońska *et al.*, 2007; Markad *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2020; Xue *et al.*, 2009).

Plusieurs études ont été menées pour évaluer les effets des métaux lourds toxiques sur les plantes (Ashraf *et al.*, 2019; Christou *et al.*, 2017; Maleki *et al.*, 2017). Ces dernières constituent des bioindicateurs sensibles à la carence ou à l'excès des métaux lourds dans le sol (Nagajyoti *et al.*, 2010). D'un autre côté, les invertébrés terrestres sont considérés comme de bons indicateurs de la qualité du sol (Amossé, 2014; Bispo *et al.*, 2017) et certains d'entre eux, particulièrement les vers de terre, présentent un intérêt particulier, car ils représentent une composante majeure de la macrofaune du sol dans la plupart des écosystèmes terrestres (Edwards, 2004).

Cependant, la nécessité d'une surveillance continue de la teneur en métaux lourds dans les différents compartiments des sols contaminés à proximité des zones industrielles, ainsi d'une évaluation environnementale et sanitaire des sites contaminés pour définir leurs effets toxiques et écotoxicologiques s'impose (Gosselin, 2003; Morel and Heinrich, 2008). C'est dans ce contexte que se situe notre thématique pour laquelle nous avons suivi cette démarche :

Tout d'abord, nous avons déterminé le devenir des éléments traces métalliques présents dans quatre sols contaminés et dans les eaux souterraines juxtaposées à la décharge industrielle du complexe sidérurgique d'El-Hadjar, ainsi que leurs concentrations dans les récepteurs biologiques qu'ils pourront atteindre. Aussi nous avons identifié les activités fongiques et quantifier les paramètres physico-chimiques associés affectant la disponibilité des ETM dans les sols contaminés. Ceci permettra d'évaluer le risque de contamination et d'appréhender les effets des métaux lourds sur l'homme et l'environnement.

Ensuite, nous avons effectué une évaluation de risques liés à ce type de contamination où on a commencé par une étude épidémiologique qui a été menée auprès des travailleurs opérant au site et des résidents habitant à proximité de la zone d'étude pour évaluer les effets sanitaires liés à l'inhalation et ingestion des poussières en suspension et au contact cutané avec les particules du sol pollué ainsi que la consommation d'eau souterraine, contaminée par ces xénobiotiques, en raison de leur infiltration via le sol vers les nappes phréatiques. La relation entre la santé et la pollution industrielle dans cette région sera analysée par une approche intégrée. De façon plus opérationnelle, une analyse descriptive de la qualité de vie et l'état de santé des agriculteurs travaillant aux sites contaminés et des citoyens vivant à proximité de l'usine sidérurgique, sera effectuée à l'aide des résultats d'une enquête par questionnaire.

En plus, un bioessai a été réalisé sur des modèles biologiques récupérés de la zone d'étude afin d'évaluer la toxicité des mixtures des métaux via la mesure de certains biomarqueurs de stress. Les résultats obtenus seront utilisés dans l'évaluation écotoxicologique du risque lié aux mélanges de métaux.

Parallèlement, nous avons effectué une étude *in vivo*, qui vise à évaluer la toxicité des métaux lourds sur des modèles biologiques, notamment les plantes et les vers de terre.

Afin de contribuer à un tel débat, cinq points spécifiques ont été résumés pour structurer cette étude :

- Etudier le devenir des métaux lourds dans les sols, les eaux et les récepteurs biologiques, ainsi que d'analyser les caractéristiques physico-chimiques et fongiques des sols ;
- Déterminer l'exposition des agriculteurs travaillant au site et des résidents habitant à proximité de la zone d'étude, en tenant compte de la multiplicité des voies d'exposition aux métaux lourds ;
- Calculer les risques toxicologiques et écotoxicologiques pour différents bioindicateurs à partir de leurs expositions à ces métaux et des doses de référence de ceux-ci ;
- Evaluer la toxicité des métaux lourds in situ et in vivo sur des modèles biologiques ;
- Recenser des actions de gestion des risques et suggérer des extensions au présent travail.


Ce travail de thèse est structuré en quatre chapitres qui examinent en détail la problématique de la contamination des sols par les métaux lourds.

Le premier chapitre se concentre sur une synthèse bibliographique de la contamination des sols, en mettant l'accent sur les métaux lourds et leurs transferts vers les plantes, les animaux et les microorganismes, et les facteurs qui influencent cette mobilité. Le stress oxydant et les étapes d'une évaluation de risque seront également étudiés.


Le deuxième chapitre est consacré aux matériaux et méthodes utilisés dans cette étude. Il est séparé en trois parties :

- Partie 1 : Caractérisation du sol et analyse des métaux lourds dans divers échantillons environnementaux ;
- Partie 2 : Evaluation de la toxicité des métaux lourds chez des modèles biologiques (in situ et in vivo) ;
- Partie 3 : Evaluation des risques sanitaires, toxicologiques et écotoxicologiques (une approche intégrée).

Les résultats obtenus dans ces trois parties sont présentés dans le troisième chapitre. Le quatrième chapitre est consacré aux discussions de chaque partie de l'étude. Nous terminons par une conclusion générale et des perspectives pour des études futures dans le but d'encourager la poursuite de la recherche dans ce domaine et à contribuer à l'amélioration des méthodes d'évaluation des risques liés à la contamination des sols par les métaux lourds.



Chapitre 1 : Synthèse bibliographique



1. Les métaux lourds dans les sols

1.1. La contamination des sols

Le terme « sol » fait référence à un compartiment complexe et multifonctionnel qui interagit avec la lithosphère, l'hydrosphère, l'atmosphère et la biosphère. Ce milieu naturel est composé de différentes couches de la croûte terrestre qui subissent des altérations, des remaniements et des interactions sous l'influence de la vie et des échanges d'énergie qui s'y déroulent (Bur, 2008).

Un sol est qualifié de polluer lorsqu'il contient un ou plusieurs polluants ou contaminants susceptibles de provoquer des altérations biologiques, physiques et chimiques de l'écosystème formé par le sol (AFNOR., 1994). La dégradation des sols est définie comme une diminution de la qualité des sols résultant de l'activité humaine (Ramade, 2000).

La dégradation des sols en Algérie représente une menace préoccupante qui affecte une vaste étendue de terres agricoles et de pâturages steppiques. Ce phénomène englobe des altérations chimiques, physiques et biologiques telles qu'une diminution de la fertilité, une dégradation de la stabilité des agrégats et une augmentation de la salinité (Douaoui and Hartani, 2007; Gouaidia et al., 2012; Mazour et al., 2008).

Selon les résultats du compendium national de statistiques de l'Algérie réalisé par l'Office National des Statistiques, environ 3 millions d'ha des terres agricoles, dont les terres labourables, prairies et cultures permanentes, sont potentiellement touchées par la dégradation au niveau national (MATE, 2000). Suite à l'inventaire des sites contaminés, près de 145 sites pollués ont été recensés en Algérie par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (MATE, 2006).

Les pesticides, les hydrocarbures dont les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les éléments traces métalliques (ETM) sont les principaux polluants retrouvés. Les métaux lourds les plus répandus, en termes d'occurrence sur les terrains contaminés, sont le plomb (Pb), le cuivre (Cu), le chrome (Cr) et, dans une moindre mesure, le cadmium (Cd), le zinc (Zn), le nickel (Ni), le mercure (Hg) et l'arsenic (As). En concentration d'oligo-éléments, la plupart des métaux sont indispensables au métabolisme cellulaire (Mohan et al., 2006). A concentration élevée, en revanche, ils présentent une toxicité plus ou moins forte (Mohan and Singh, 2002), pour toutes les espèces animales (Eissa, 2019; Pandey and Madhuri, 2014; Yang et al., 2017) ainsi que pour la plupart des végétaux (Kacholi and Sahu, 2018; Sbartai et al., 2008a).

1.2. Cas des métaux lourds

1.2.1. Définition

Le terme « métal lourd » désigne les éléments traces métalliques « ETM » naturels, caractérisés par une masse volumique supérieure à 5 g/cm³ (Wang et al., 2009), un numéro

atomique élevé, généralement supérieur à celui du Sodium où $Z = 11$, et une densité relativement élevée, présentant ainsi un danger pour la santé et l'environnement (Tableau 1).

En toxicologie, on appelle également « métaux lourds » tout éléments avec caractère cumulatif (souvent dans les tissus adipeux) ayant des effets toxiques sur des organismes vivants même à faible concentration (Duruibe et *al.*, 2007; Kolesnikov et *al.*, 2000; Tchounwou et *al.*, 2012; Yi et *al.*, 2011).

Tableau 1: Classification de quelques métaux lourds selon leur densité et leur toxicité (Bliefert et Perraud, 2003).

Métaux	Plantes	Animaux	Densité (g/cm ³)
Cd	T	T	8,65
Cr		E	7,20
Cu	ET	ET	8,92
Ni	T	E	8,90
Pb	T	T	11,34
Zn	ET	E	7,14
Mn	ET	E	7,20

T = Toxique ; E = Essentiel

1.2.2. Caractérisation des métaux lourds

- **Les métaux essentiels**

Les métaux essentiels jouent un rôle crucial dans de nombreux processus cellulaires, en étant présents à l'état de traces. À des doses trop faibles, ils peuvent entraîner des carences dans l'organisme, mais leur toxicité se manifeste lorsque leur concentration dépasse un seuil spécifique. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du manganèse (Mn), du fer (Fe), etc. (Charbit, 2017). Ce dernier, par exemple, est un oligo-élément essentiel qui assure de nombreuses fonctions dans l'organisme. En excès le fer peut être toxique avec des conséquences néfastes sur la fonction et l'intégrité des tissus (Vaulont, 2017).

- **Les métaux non essentiels**

Les métaux non essentiels sont considérés comme des polluants. Ils ne présentent aucun effet bénéfique connu pour les cellules et ont des effets toxiques sur les organismes vivants, même à de faibles concentrations (Behanzin et *al.*, 2014).

Selon M. Mominul et al (2018), le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le chrome (Cr) et le mercure (Hg), sont les principaux métaux lourds impliqués dans la contamination des sols.

1.2.3. Origine des métaux présents dans le sol

L'accumulation des métaux lourds en quantité plus élevée que la normale, entraîne une contamination des écosystèmes des sols (Ghannem et *al.*, 2016).

Contrairement aux composés organiques, les métaux lourds tels que le plomb, le cadmium, le cuivre et le mercure, ne sont pas biodégradables et sont donc persistants pendant de longues périodes dans les sols. Leur occurrence dans les sols peut être soit d'origine naturelle ou anthropique.

- **Origine naturelle**

Les métaux lourds sont naturellement trouvés dans les roches, ils sont dispersés durant leurs altérations pour former le fond géochimique (Bradl, 2005). La concentration naturelle de ces métaux dans les sols varie selon la composition de sa roche mère (Tableau 2).

Tableau 2: Composition chimique des roches en éléments traces (ppm) (Tardy, 1966).

Eléments	Cr	Pb	Sn	Co	Ba	Ni	Cu
Migmatite	768	131	44,5	26	693	36,5	57,5
Granite	786	122,4	34,9	24	328,4	38,8	59,7

- **Origine anthropique**

Au cours des dernières décennies, la principale source de contamination est d'origine anthropique. Les types de pollution anthropique responsables de l'augmentation des flux de métaux (Tableau 3) sont la pollution liée aux activités humaines (déchets agricoles, urbains et industriels).

Tableau 3: Flux des métaux lourds dans l'environnement (tonne/an) (Adjagodo *et al.*, 2016; Outron *et al.*, 2016).

Elément	Flux anthropogénique	Flux naturel
Cd	43	4,5
Cr	7810	810
Cu	9162	375
Pb	3665	180
Ni	1134	255
Zn	7467	540

1.2.4. Comportement des métaux lourds dans le sol

Les polluants sont principalement liés aux particules de sols et sédiments (Bourrelier et Berthelin, 1998). Comparés aux polluants organiques, les métaux lourds ont la particularité d'être non biodégradables par des processus chimiques ou biologiques dans le sol. En effet, ils sont susceptibles de se répartir dans le sol sous différentes formes (Sirven, 2006).

Les métaux à l'état de traces, non dégradables dans le sol, représentent un risque de contamination important et dangereux pour l'environnement (Figure 1). Car ils s'accumulent dans les eaux souterraines, puis pénètrent dans les plantes consommées par les animaux et les êtres humains (Sirven, 2006).

En effet, l'impact toxicologique des métaux lourds est évalué en fonction de leur mobilité et de leur biodisponibilité (Baize, 2016).

1.2.4.1. Transfert des métaux lourds du sol vers les plantes

Les plantes sont directement exposées à la pollution des sols. Leur système racinaire possède une surface d'échange incroyable, ce qui les rend particulièrement vulnérables aux polluants (Foltete, 2010). Ainsi, la quantité d'un élément trace métallique pouvant être transférée dans les plantes représente la phytodisponibilité (Joubert, 2008; Noubissié, 2015). Ce transfert se fait par deux voies : par les parties aériennes et par les racines (Tremel-Schaub and Feix, 2005a).

Les éléments métalliques provenant des fines poussières présentent dans l'air, de composés gazeux (Hg et Se) ou de composés dissous dans l'eau de pluie ou d'irrigation, pénètrent dans les parties aériennes à travers les stomates des feuilles, et s'accumulent dans la cuticule et les parois cellulaires (Tremel-Schaub and Feix, 2005a). Ces ETM, sont généralement absorbés sous forme d'ions, et migrent vers les feuilles, les tiges et les fruits, accompagnées par d'autres ions, des acides organiques, des acides aminés ou des petits peptides (Assad, 2017).

La toxicité des éléments métalliques ainsi absorbés par les végétaux se traduit par une inhibition de la croissance accompagnée d'autres dysfonctionnements, notamment la chlorose foliaire, les lésions nécrotiques, le jaunissement progressif, le repliement ou dessèchement du feuillage (Remon, 2006). Une étude sur l'effet de terrils de manganèse sur l'Arachide (*Arachis hypogea* L) a révélé que le manganèse induisait des symptômes visuels de toxicité et une réduction de la croissance longitudinale et radiale des tiges à forte concentration, avec une réduction de l'abondance des feuilles (Nzengué et al., 2019).

Au niveau moléculaire, ces perturbations se produisent généralement à la suite d'un stress oxydatif, dû à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces dernières affectent divers substrats biologiques essentiels, entraînant l'inhibition de l'activité enzymatique, la perturbation du métabolisme végétal (respiration et photosynthèse), l'oxydation des protéines, la perturbation des membranes cellulaires par des processus de peroxydation lipidique, et l'apparition de cassures dans l'ADN pouvant conduire à la mort cellulaire (Pourrut, 2008; Remon, 2006).

Par conséquent, les travaux de Azizi (2016) et ceux de Yaiche et al. (2017) ont montré que l'exposition du blé dur (*Triticum durum* Desf.) aux métaux lourds induit une activation du système de détoxification qui limite les dégâts des espèces réactives de l'oxygène.

1.2.4.2. Transfert des métaux lourds du sol vers les animaux

Le transfert des polluants métalliques présents dans le sol, principalement des aliments vers les animaux, se déroule en trois étapes (Laurent et al., 2012) :

- **L'absorption intestinale** : après des phénomènes de mastication, de salivation, de déglutition et de dégradations enzymatiques buccales, stomacales et pancréatiques, le

transfert des ETM de la lumière intestinale vers la voie lymphatique et/ou la voie portale, peut s'effectuer selon un processus de diffusion passive mais également selon un mécanisme actif (transport actif dans les membranes intestinales).

- **La distribution tissulaire :** ce passage du sang aux différents tissus est lié à la présence de protéines de transport des métaux, synthétisées par le foie, dites métalloprotéines (comme la transferrine, la ferritine, la transcuprine, la céruloplasmine et la métallothionéine). Les reins, le foie, ainsi que les muscles et les os, sont les principaux tissus ciblés par les éléments traces métalliques (ETM).
- **L'élimination des polluants de l'organisme :** les polluants métalliques absorbés ne semblent pas être accumulés dans ces tissus mais ils seraient probablement excrétés régulièrement de l'organisme majoritairement par la voie urinaire.

À l'instar des végétaux, divers modèles animaux ont été utilisés dans des études toxicologiques pour évaluer la toxicité des métaux lourds (Adamou et *al.*, 2019; Diaby et *al.*, 2019; Poirier et *al.*, 2019; Sanou et *al.*, 2020).

1.2.4.3. Transfert sol-microorganismes des métaux lourds

Le sol est un compartiment de l'écosystème qui possède un remarquable réservoir de différents types de microorganismes. On compte 107 bactéries, 105 champignons, 105 protozoaires et 104 algues par gramme de sol sec. L'activité microbienne est essentielle pour le cycle biogéochimique des éléments, y compris la fertilité du sol et le transport des métaux dans l'environnement (Huynh, 2009; Lavoie et *al.*, 2016).

De faibles concentrations de certains métaux tels que le zinc, le cuivre, le cobalt et le nickel sont essentielles pour l'activité métabolique des cellules bactériennes (Pires, 2010). D'autres métaux comme le Pb et le Cd sont cytotoxiques à des concentrations plus élevées (Haouchine and Leham, 2016; Présent, 2018).

La densité, la taille, l'activité enzymatique et la structure de la communauté génétique ou fonctionnelle, permettent d'évaluer l'impact des métaux lourds sur les communautés microbiennes (Huynh, 2009). Cependant, la résistance aux métaux lourds a été observée pour tous les types de microorganismes (Benkhaoua and Haridi, 2017; Yakoubi, 2019). Mais l'utilisation des champignons pour la détoxification des sols paraît promise à un bel avenir.

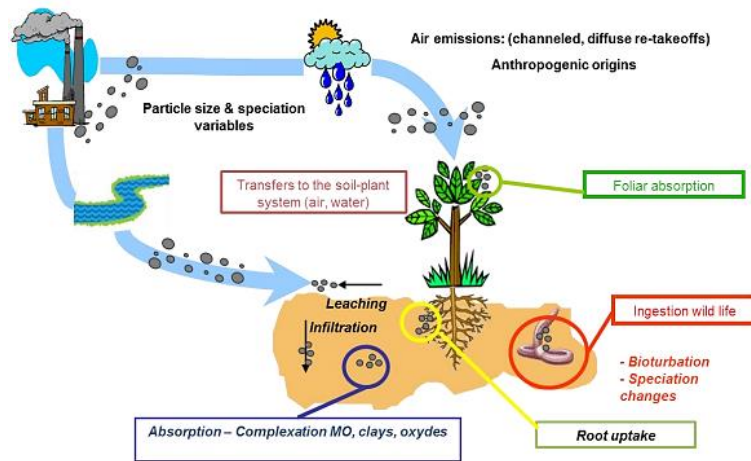


Figure 1: Sources, transferts et risques des éléments traces métalliques sur l'environnement (Qasim, 2015).

1.2.5. Paramètres influençant la mobilité des métaux lourds dans le sol

Plusieurs facteurs conditionnent la biodisponibilité des métaux à l'état de traces ainsi que leur mobilité dans la solution du sol (Krika, 2013).

Parmi lesquels, le pH, le potentiel redox (Eh), la capacité d'échange cationique (CEC), la teneur en matière organique, les argiles, les carbonates et les activités biologiques (Aissaoui, 2019).

1.2.5.1. Le pH

Les éléments traces métalliques sont généralement plus mobiles dans les sols à pH acide (Krika, 2013). En conditions acides, la plupart des sites de liaison potentiels sont occupés par des protons, ce qui favorise la mobilité des ETM libres par la mise en solution des sels métalliques (Deschamps et *al.*, 2006).

Par contre, dans les milieux alcalins, les sites de liaison sont occupés par les éléments métalliques. Cette augmentation du pH provoque donc l'immobilisation des ETM par la formation de composés insolubles (Viard-La Rocca, 2004).

Le pH, étant un indicateur de la mobilité et de la forme des métaux lourds dans les sols, constitue également l'un des paramètres contrôlant leur disponibilité pour les plantes et les organismes terrestres (Bur, 2008). Lorsque le sol s'acidifie, cela entraîne une augmentation de l'activité des ions libres, qui deviennent plus facilement assimilables par les organismes. Par conséquent, ce processus peut être responsable des phénomènes de toxicité (Ge et *al.*, 2000).

1.2.5.2. Le potentiel d'oxydo-réduction

La mobilité des ions en solution dans le sol est également liée à des équilibres redox. Les espèces oxydées existent en général pour des potentiels redox élevés alors que les faibles

valeurs du potentiel d'oxydoréduction favorisent l'apparition des espèces réduites (Aissaoui, 2019).

Dans des conditions réductrices, comme dans les sols faiblement aérés, la mobilité des éléments traces augmente (Kabata-Pendias and Pendias, 2001). Par exemple, le manganèse est présent sous la forme Mn(II) qui est la forme la plus soluble dans des conditions réductrices du milieu. Mais en conditions oxydantes, le Mn(II) est oxydé en Mn(III) et Mn(IV), lesquels sont présents principalement dans les hydroxydes et oxydes insolubles, diminuant ainsi la mobilité de Mn (Reddy and DeLaune, 2008).

1.2.5.3. La capacité d'échange cationique

La CEC désigne la compétition entre les différentes espèces cationiques présentes dans un système. Cette compétition se produit généralement lorsque les sites d'adsorption spécifiques deviennent saturés en raison d'une salinité accrue dans le milieu (un apport supplémentaire de Ca^{2+} ou de Na^+), de son acidification (cations H^+ supplémentaires) ou de la présence de sources ponctuelles de contaminants inorganiques ou d'engrais (Galvez-Cloutier and Lefrançois, 2005). L'effet cationique du sol est donc un facteur de contrôle de la mobilité des éléments métalliques. Plusieurs auteurs ont montré que l'accumulation des ETM dans les plantes est élevée au niveau des sols à capacité d'échange cationique faible (Hodomihou, 2016; Redjala, 2009).

1.2.5.4. La matière organique

Dans le sol, la matière organique (MO) intervient dans la répartition des éléments métalliques entre la phase liquide et la phase solide, par la formation des complexes d'éléments métalliques avec la MO (Park et al., 2011). Cette dernière possède différents groupes fonctionnels qui permettent de complexer les ETM avec des substances humiques insolubles intégrées à la matrice du sol (Madejón et al., 2010). Les groupements carboxyles (-COOH) ou phénol (-OH) sont les plus répandus, tandis que les groupements thiols (-SH) ou amines (-NH₂), bien que moins fréquents, peuvent également jouer un rôle important dans la complexation des ETM (Cheng et al., 2010).

D'après Almas et al. (2000), les teneurs élevées en matières organiques dans le sol contribuent à augmenter la mobilité du Cd et du Zn exogènes via la formation de complexes dissous. Cependant, la diminution des teneurs en MO dans le sol peut conduire à une augmentation des concentrations en ETM solubles (Zhou and Wong, 2003).

1.2.5.5. Les ligands minéraux et organiques

La solubilité des éléments cationiques dans les sols est limitée par la formation de sulfates, de phosphates, d'oxyhydroxydes et de carbonates. Les ligands organiques ont la capacité de complexer les éléments en fonction de nombreux paramètres tels que le rapport des concentrations de ligands/métal et du pH. Ils peuvent également modifier considérablement la spéciation et la réactivité des cations. En général, la formation de complexes par des acides carboxyliques de faible poids moléculaire augmente la mobilité des éléments métalliques (Aissaoui, 2019).

1.2.5.6.L'activité biologique

Les activités métaboliques de nombreuses populations bactériennes et fongiques influencent la mobilité des métaux lourds. La solubilisation, l'insolubilisation et la volatilisation sont les principaux modes d'action des micro-organismes sur cette mobilité (Benahmed, 2017).

La solubilisation a lieu lorsque des composés acides tels que les acides carboxyliques, nitrique, phénoliques, aliphatiques et sulfurique sont produits. Ces composés sont générés par certaines bactéries chimiolithotrophes (*Thiobacillus*, *Leptospirillum*, *Galionella*), qui oxydent les formes réduites du fer et du soufre présentes dans les sulfures, ce qui entraîne la production d'acide sulfurique. Cet acide sulfurique a la capacité de dissoudre les oxydes, les sulfures, les silicates et les phosphates, ce qui permet ainsi la libération des métaux lourds (Benahmed, 2017).

L'insolubilisation désigne le phénomène inverse. Certains acides organiques de faible poids moléculaire, tels que les acides citriques, oxaliques ou fumariques, peuvent être excrétés dans l'environnement. Ces acides sont impliqués dans la complexation intracellulaire des éléments nutritifs et peuvent ainsi restreindre les transferts par le processus de complexation (Benahmed, 2017).

2. Stress oxydant

2.1. Définition

Le terme « stress oxydatif » fait référence à un déséquilibre entre la production des espèces réactives d'oxygène (ERO) et les défenses antioxydantes (Figure 2) (Halliwell, 2007).

Le stress oxydatif (ou oxydant) a été défini par Sies (1997) comme « une perturbation de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dommages potentiels. Ces dommages sont souvent appelés : dommages oxydatifs ».

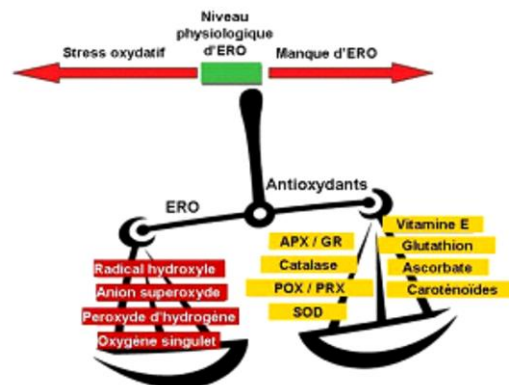


Figure 2: Schématisation de la balance oxydants/antioxydants (Pourrut, 2008).

2.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Les ERO sont souvent associées aux radicaux libres. Le terme « radical libre » désigne toute espèce capable d'une existence indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés (Halliwell, 2007).

Ces espèces sont des dérivés de l'oxygène caractérisés par un état énergétique excité et hautement réactif de certains électrons. Elles constituent la plus grande classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants et la principale cause de stress oxydatif dans ces derniers (Valko *et al.*, 2005).

Les ERO représentent, soit les espèces radicalaires de l'oxygène, tels que le superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH), les alkoxydes (RO) ou les peroxydes (ROO), soit des espèces actives non radicalaires de l'oxygène, comme l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'ozone (O_3) (Halliwell, 2007).

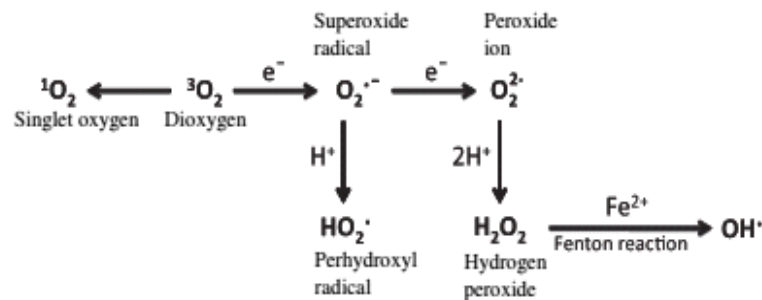


Figure 3: La production des ERO (Favier, 2003).

La formation d'un anion superoxyde O_2^- est le résultat d'une réduction incomplète de l'oxygène. L'anion superoxyde subit généralement une réaction de dismutation spontanée (ou accélérée par la SOD), entraînant la formation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence de métaux de transition dans leur état réduit, la dégradation du peroxyde d'hydrogène entraîne la formation du radical hydroxyle (OH), un radical libre hautement réactif. Ce radical hydroxyle peut être généré par la rupture homolytique de la liaison -O-O- de l' H_2O_2 (Hippeli and Elstner, 1999).

2.3. Sources des ERO

Plusieurs compartiments cellulaires abritent différentes sources cellulaires de ROS. En présence de lumière, les chloroplastes et les peroxysomes constituent la principale source de production de ROS chez les plantes, tandis que les mitochondries semblent être les principales productrices de ROS en l'absence de lumière. D'autres sources importantes de production de ROS incluent les réactions de désintoxication catalysées par le cytochrome P450 dans le cytoplasme et le réticulum endoplasmique, ainsi que les réactions de réduction catalysées par l'oxalate oxydase et l'amine oxydases dans l'apoplaste des cellules (Kuluev *et al.*, 2017).

Selon (Schewe, 2002), il a été démontré que les lipoxygénases sont également une source importante de ROS. Les lipoxygénases sont des enzymes impliquées dans la voie de l'acide arachidonique et jouent un rôle dans la production de médiateurs inflammatoires tels que les leucotriènes et les lipoxines (Bassal et *al.*, 2021). En plus de leur rôle dans la signalisation cellulaire, les lipoxygénases peuvent générer des ROS en catalysant des réactions d'oxydation lipidique. Ces réactions peuvent se produire dans différents compartiments cellulaires, tels que les chloroplastes, les peroxysomes et les mitochondries. Les lipoxygénases peuvent oxyder les acides gras polyinsaturés, ce qui conduit à la production de ROS (Noguchi et *al.*, 2002). Par conséquent, les lipoxygénases doivent être prises en compte lors de l'étude des sources de ROS.

2.4. Les mécanismes de défenses antioxydants

Les cellules possèdent des systèmes de défense endogènes enzymatiques et non enzymatiques, capable d'inverser le stress oxydant, résultant du métabolisme aérobie, appelés antioxydants (Wassmann et *al.*, 2004). Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui, présente à faible concentration/au substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation du substrat (Comhair and Erzurum, 2002).

2.4.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

La superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion-s-transférase (GST) et la glutathion peroxydase (GPX) ainsi que la glutathion réductase (GR), sont considérés comme la première ligne de défense des organismes vivants contre les ERO (Chavan and Melinkeri, 2013).

2.4.1.1. La superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD) est la première enzyme antioxydante de défense contre le stress oxydatif, qu'il soit d'origine biotique ou abiotique. Cette enzyme, qui fait partie de la famille des métalloenzymes, catalyse la dismutation de l' $O_2^{\circ-}$ en H_2O_2 et O_2 (Herrero et *al.*, 2008). On identifie trois types ou isoenzymes de SOD en fonction du cofacteur métallique et de la localisation intracellulaire : Cu/Zn-SOD, Mn-SOD et Fe-SOD (Apel and Hirt, 2004).

2.4.1.2. La catalase (CAT)

La catalase est une enzyme tétramérique ayant un groupement hémique contenant du fer, elle régit la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en H_2O et en O_2 (Arora et *al.*, 2002). Il est connu qu'une molécule de CAT peut convertir 6 millions de molécules de H_2O_2 en H_2O par minute (Kuluev et *al.*, 2017).

Elle est importante dans la suppression du H_2O_2 généré dans les peroxysomes lors de la β -oxydation des acides gras, la photorespiration et le catabolisme des purines (Mittler, 2002).

2.4.1.3. La glutathion peroxydase (GPX)

La glutathion peroxydase est une famille étendue d'isoenzymes qui ont pour fonction de catalyser la réduction de H₂O₂, des hydroperoxydes organiques et lipidiques en utilisant le glutathion réduit comme donneur de protons. Bien que son activité soit plus lente que celle de la catalase, la glutathion peroxydase présente une meilleure affinité pour le H₂O₂ que cette dernière. Les isoenzymes de la GPX peuvent être dépendantes ou indépendantes du sélénium, et se trouvent soit dans le cytosol, soit à l'extérieur de la cellule (Sharma et *al.*, 2012a).

2.4.1.4. La glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase est une flavoprotéine oxydoréductase qui joue un rôle crucial dans la régénération du glutathion réduit (GSH) à partir du glutathion disulfure (GSSG). Elle utilise le NADPH comme réducteur pour catalyser cette réaction. Cette régénération du glutathion réduit permet d'économiser de l'énergie, car elle évite la synthèse de nouvelles molécules de glutathion qui nécessiterait une consommation d'ATP plus importante.

La glutathion réductase est principalement présente dans les chloroplastes, mais on peut également trouver des isoformes de cette enzyme en faible quantité dans les mitochondries, le cytosol et les peroxysomes en cas de stress d'origine biotique ou abiotique (Perl-Treves and Perl, 2002).

2.4.1.5. La glutathion S-transférase (GST)

Les glutathion-S-transférases (GSTs) sont une vaste famille d'enzymes multifonctionnelles impliquées dans la détoxification. Leur principale fonction est de catalyser la conjugaison de composés électrophiles avec le glutathion. Ces enzymes sont présentes de manière ubiquitaire, principalement dans le cytoplasme et les mitochondries (Sheehan et *al.*, 2001).

Elles jouent un rôle dans la réponse des plantes aux stress d'origine biotique et abiotique. Les GSTs ont également des effets indirects sur la détoxification des ROS, en facilitant le transport du GSH vers les compartiments cellulaires subissant des dommages oxydatifs, et en liant le GSH aux aldéhydes produits lors de la peroxydation lipidique. Ces enzymes ont donc un rôle essentiel dans le transport intermembranaire, la liaison et la détoxification des xénobiotiques. En collaboration avec la glutathion réductase (GR) et la glutathion peroxydase (GPX), elles jouent un rôle central dans la détoxification des ROS par le GSH (Kuluev et *al.*, 2017).

2.4.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques

Les principaux antioxydants non-enzymatiques comprennent principalement le glutathion, la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et l'acide urique. Ces molécules vont interrompre la chaîne de réaction radicalaire mais aussi dans la croissance et le développement des plantes dès les premières phases de croissance jusqu'à la sénescence (Sharma et *al.*, 2012a).

2.4.2.1.L'acide ascorbique (ASC ou vitamine C)

La vitamine C est produite par les plantes et la plupart des animaux. Dans des conditions physiologiques normales, l'acide ascorbique (ASC) est principalement présent sous sa forme réduite dans les chloroplastes. Grâce à sa capacité à transférer des électrons dans de nombreuses réactions enzymatiques et non enzymatiques, il est le composé principal impliqué dans la détoxification des ROS (Smirnoff, 2000).

La vitamine C exerce également une action antioxydante indirecte en recyclant les caroténoïdes et le α -tocophérol (Gardès-Albert et *al.*, 2003).

2.4.2.2.Les tocophérols ou Vitamine E

La vitamine E, particulièrement l' α -tocophérol, est un antioxydant liposoluble qui protège les membranes des thylakoïdes dans les chloroplastes contre les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène. Il agit en empêchant ou en stoppant la propagation de la peroxydation lipidique en réagissant directement avec les ROS produits à partir d'acides gras polyinsaturés (PUFA) ou d'autres molécules radicalaires. Des études ont démontré que le stress oxydatif active l'expression de gènes responsables de la synthèse des tocophérols chez les plantes supérieures (Munné-Bosch, 2005).

2.4.2.3.Le glutathion

Le glutathion est un tri-peptide formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine (γ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine). Il est impliqué dans divers processus physiologiques tels que la régulation du transport du soufre, la régulation de l'expression des gènes, la détoxification des xénobiotiques et la synthèse des phytochélatines (PC). Les phytochélatines jouent un rôle essentiel dans la séquestration des métaux chez les plantes (Clemens, 2006).

Le GSH joue un rôle crucial dans le système de défense antioxydant, notamment dans les chloroplastes, en protégeant l'appareil photosynthétique contre les effets nocifs des espèces réactives de l'oxygène (ROS). De plus, le glutathion empêche la dégradation des protéines causée par l'oxydation des groupes thiols pendant les périodes de stress. Ces fonctions résultent de l'oxydation du GSH, qui forme le glutathion disulfure (GSSH) (Xiang et *al.*, 2001).

Le ratio de GSH/GSSH est maintenu par la glutathion réductase (GR), qui utilise le NADPH pour réduire le GSSH en deux GSH (Sisein, 2014).

2.4.2.4.Les phytochélatines

Les phytochélatines sont des peptides synthétisés à partir du glutathion et jouent un rôle essentiel dans la détoxification des métaux chez les plantes (Datta and Roychoudhury, 2022). Les phytochélatines sont produites par une enzyme appelée phytochélatine synthase, qui catalyse l'addition successive de résidus de cystéine au glutathion (Kaur and Goyal, 2022).

Les phytochélatines agissent en se liant aux ions métalliques toxiques, formant des complexes stables. Ces complexes sont ensuite transportés vers les vacuoles, les organites cellulaires responsables du stockage des substances, où ils sont séquestrés en toute sécurité. Cette séquestration des métaux toxiques dans les vacuoles permet de réduire leur concentration dans le cytoplasme et de minimiser les dommages causés aux composants cellulaires (Weerakoon, 2019).

2.4.2.5. Les métallothionéines

Les métallothionéines sont des protéines riches en cystéine qui jouent un rôle crucial dans la détoxification des métaux. Elles sont synthétisées en réponse à une exposition aux métaux lourds tels que le cadmium, le cuivre et le zinc. Les métallothionéines ont une forte affinité pour ces métaux toxiques et agissent comme des ligands, se liant aux ions métalliques et formant des complexes stables. Cette liaison permet de réduire la toxicité des métaux en les séquestrant et en les empêchant d'interagir avec d'autres composants cellulaires (Ruttkay-Nedecky et *al.*, 2013).

Les métallothionéines sont présentes dans de nombreux organismes, y compris les plantes, les animaux et les micro-organismes (Mosna et *al.*, 2023). Chez les plantes, elles sont principalement localisées dans les vacuoles, les organites cellulaires responsables du stockage des substances. En plus de leur rôle dans la détoxification des métaux, les métallothionéines sont également impliquées dans la régulation du métabolisme des métaux, en contrôlant leur absorption, leur transport et leur accumulation dans les différentes parties de la plante (Llerena et *al.*, 2021).

2.4.2.6. Les oligoéléments

Toutes les enzymes antioxydantes dépendent d'un cofacteur spécifique pour maintenir leur activité catalytique. La superoxyde dismutase (SOD) mitochondriale nécessite du manganèse, la SOD cytosolique a besoin de cuivre et de zinc, la catalase utilise le fer comme cofacteur, et la glutathion peroxydase (GPX) dépend du sélénium. Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le sélénium (Se), le manganèse (Mn) et le fer (Fe) sont donc des métaux essentiels pour contrer le stress oxydant. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss) (Bułdak et *al.*, 2014).

3. Evaluation et gestion des risques pour les sols contaminés

3.1. Notions

Tout d'abord, il convient de différencier les notions de danger et de risque. En effet, le danger est une propriété ou une capacité d'un objet, d'une personne, ou d'un processus, pouvant entraîner des conséquences néfastes, aussi appelés dommages. Un danger est donc une source possible d'accident.

On appelle « risque », la probabilité d'apparition d'effets toxiques après l'exposition des organismes à une substance dangereuse (Dionne, 2013). Un danger ne se transforme en

risque que lorsqu'il y a exposition à celui-ci, ce qui implique une possibilité de conséquences néfastes.

Dans le contexte des sols pollués, le risque toxicologique (ou écotoxicologique) est « la probabilité que des effets néfastes sur la santé humaine (ou l'environnement) se produisent à la suite d'une exposition à des agresseurs environnementaux d'origine chimique, physique ou biologique. » (Itard and Bosc, 2006).

À la définition de ces notions s'ajoutent deux autres concepts à préciser ; la gestion et l'évaluation du risque (Itard and Bosc, 2006) :

- **La gestion des risques** : est une démarche qui permet d'identifier, de déterminer, et d'évaluer les mesures de prévention des risques toxicologiques en tenant compte des aspects sociaux, culturels, éthiques, politiques et juridiques.
- **L'évaluation du risque** : est un processus à la fois qualitatif et quantitatif qui a pour objectif de déterminer la probabilité d'effets néfastes sur la santé humaine ou l'environnement suite à une exposition à un ou plusieurs agents environnementaux.

L'évaluation du risque toxicologique englobe l'étude des agents d'origine chimique, physique ou biologique, susceptibles de causer des effets nocifs sur la santé humaine (Valcke et al., 2012a).

L'évaluation du risque écotoxicologique (ERE) est « un processus rationnel d'identification, de comparaison et d'analyse de mesures descriptives permettant de porter un jugement global relatif au comportement environnemental et aux effets de contaminants sur un ou des récepteurs dans une situation d'aide à la décision. » (CEAEQ, 1998).

En d'autres mots, l'ERE est un outil qui permet d'estimer les possibilités d'effets néfastes d'une activité émettant des contaminants dans l'environnement (Lauzon, 2016).

3.2. Les étapes de l'évaluation du risque

L'évaluation de risques toxicologiques comporte 4 étapes : l'identification des dangers, l'évaluation de la relation dose-réponse, l'estimation de l'exposition, et la caractérisation des risques (Dillen, 2012).

En termes d'écotoxicologie, les étapes relatives à l'évaluation des risques pour les écosystèmes sont assez semblables. La principale difficulté se situe dans la grande diversité de la faune et de la flore (Itard and Bosc, 2006).

3.2.1. Identification du danger

Cette étape constitue la première étape de l'évaluation des risques toxicologiques. Elle vise à déterminer la situation susceptible de présenter un risque pour la santé publique. Cela permet ainsi de définir les principales voies d'exposition, les différents effets qui y sont associés et d'identifier les populations à risque en fonction de leur vulnérabilité (enfants,

femmes enceintes, personnes âgées, etc.) et de leurs comportements, habitudes et pratiques particulières (Valcke et al., 2012a).

Quant à l'évaluation du risque écotoxicologique, une description du site contaminé doit être effectuée afin d'identifier les récepteurs écologiques trouvés sur le terrain d'étude et ses composantes (couverture végétale, eaux de surface, faune, etc.) (Lauzon, 2016). Cette étape est essentielle à la réalisation d'un modèle conceptuel représentatif de la zone d'étude, qui permet de déterminer les interactions entre les voies d'exposition et les réponses écotoxicologiques potentielles des récepteurs, à l'aide d'un schéma plus ou moins élaboré (CEAEQ, 1998).

3.2.2. Caractérisation toxicologique

Elle vise à établir une relation dose-réponse, c'est-à-dire la relation entre la dose biologiquement effective et la réponse toxique chez l'homme (Itard and Bosc, 2006). Les VTR sont les doses de contaminants auxquelles un individu peut être exposé sans risque d'effets toxiques non cancérogènes. Pour les substances à effets cancérogènes, des coefficients de cancérogénicité sont utilisés pour estimer le risque. Ces coefficients correspondent au nombre de cas de cancer en excès, par rapport au taux de base de la population, sur la durée de vie des individus de cette population (Valcke et al., 2012a).

Les principales bases de données des valeurs de référence et des estimateurs de risques cancérogènes sont les suivantes : Santé Canada, Organisation mondiale de la Santé (OMS), Integrated Risk Information System (IRIS), et Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (Valcke et al., 2012a).

3.2.3. Estimation de l'exposition

L'estimation de risque est le calcul des doses auxquelles les personnes sont exposées en fonction des différentes voies d'exposition. Elle permet de caractériser l'exposition en déterminant les conséquences du contact entre un contaminant et un individu ou une population, de présenter les scénarios d'exposition et d'estimer la durée d'exposition, la fréquence et la gravité du contact en tenant compte des voies respiratoires, orales et cutanées (Itard and Bosc, 2006; Valcke et al., 2012a).


Trois types de dose sont calculés pour estimer l'exposition (Itard and Bosc, 2006) :

- **La dose d'exposition potentielle** : qui constitue la dose totale en contact avec la personne exposée et qui est susceptible d'être absorbée.
- **La dose absorbée** : définie comme étant la dose d'un contaminant qui traverse l'épithélium. Cette dose peut varier en fonction du milieu, du polluant et de sa concentration.
- **La dose biologiquement efficace** : c'est la quantité d'un contaminant (ou d'un métabolite) qui interagit avec les macromolécules et entraîne une altération des fonctions physiologiques.


3.2.4. Estimation du risque

L'estimation du risque met en évidence les caractéristiques toxicologiques et écotoxicologiques des contaminants (valeurs de référence et estimateurs du risque cancérogène) et les doses d'exposition. Cette dernière étape s'effectue pour chaque type d'effet (cancer, effets chroniques non cancérogènes, effets aigus) et pour chaque contaminant (Valcke et al., 2012a).

Les risques écotoxicologiques sont évalués pour chaque groupe de récepteurs écologiques exposé à un contaminant spécifique. Des équations précises tirées de la littérature sont utilisées pour calculer le risque de perturbation, qui dépend du type de contaminant, du mode de transport et du récepteur potentiellement affecté (CEAEQ, 1998; Triffault-Bouchet et al., 2011).



Chapitre 2 : Matériel et méthodes



1. Zone d'étude

1.1. Présentation du cadre géographique

La présente étude a été réalisée dans la région d'El-Karma (Figure 4). Celle-ci est située à la commune d'El-Hadjar, le cœur battant de l'industrie nationale à Annaba, qui compte 35 000 habitants pour une surface occupée de 62 km² (Centre National d'études et de Réalisations en Urbanisme-CNERU, 1980).

Le choix de la zone a été motivé essentiellement par sa proximité des industries métallurgiques et sidérurgiques (Hazourli et *al.*, 2007). En effet, le complexe sidérurgique d'El-Hadjar est implanté à 15 km au sud-est de la ville et à 07 km de son agglomération, il couvre une superficie d'environ 800 ha estimée aux riches terres agricoles de la vallée d'Annaba.

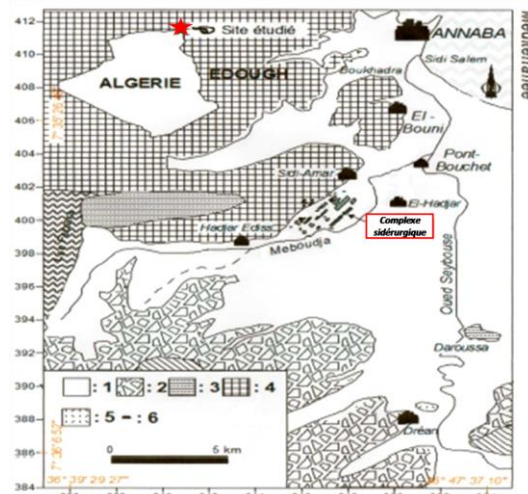


Figure 4: Situation géographique de la zone d'El-Karma, El-Hadjar (Source modifiée Ferroum, 2015).

Généralement, la zone d'étude est soumise à un climat méditerranéen caractérisé par deux périodes. La première période est froide et humide, allant du septembre à mai. La seconde période est sèche et chaude, durant les mois de juin, juillet et août (Derradji et *al.*, 2003).

Les précipitations dans la plaine d'Annaba varient entre 600 et 700 mm, tandis qu'elles atteignent 800 mm dans le secteur nord-ouest. Les mois de novembre, décembre, janvier et février ont été désignés comme étant les mois les plus humides (Ferroum, 2015).

Les vents dominants sont les vents du nord et d'ouest et à un moindre degré ceux du nord-ouest. Les vents du nord soufflent sur la plaine de mi-avril à octobre et ils constituent la principale cause de pollution par le dépôt de poussières et d'aérosols sur les cultures. Les vents du nord-ouest soufflent de novembre jusqu'à mi-avril n'ont pas d'impact direct sur les cultures (Kadem, 2005).

La zone d'étude est située entre la chaîne numidienne et le massif d'Edough, où se forment des couches argilo-gréseuses et marneuses. En plaine, l'agriculture est le secteur dominant dans ses différents aspects : maraîchage, agrumes, céréales, cultures industrielles (tabac), légumineuses (Kadem, 2005).

1.2. Présentation des parcelles expérimentales

Quatre parcelles situées à la ferme pilote Chaibi Larbi d'El-Karma ($36^{\circ}45'33.7''N$ $7^{\circ}40'41.2''E$) au sud du complexe sidérurgique d'El-Hadjar ont été sélectionnées. Le plan parcellaire et la superficie de chacune sont délimités dans la figure (5). Au moment de l'étude, les parcelles du blé dur (S1 et S2) et les parcelles du blé tendre (S3 et S4) étaient les cultures usuelles en rotation.



Figure 5: Le plan parcellaire de la ferme pilote Chaibi Larbi (Source modifiée Géomètre Expert foncier Kara M. S., 2016).

Partie 1 : Caractérisation du sol et analyse des métaux lourds dans divers échantillons environnementaux

La préparation des échantillons a eu lieu dans le laboratoire Pédagogique de Physiologie Végétale du département de Biologie de l'Université d'Annaba. Les analyses physico-chimiques des sols agricoles ont été effectuées au laboratoire agronomique de FERTIAL à Annaba. La partie de la mycothèque a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV). Et les analyses des métaux lourds ont été effectuées à la division laboratoire du centre de recherche et développement CRD - Sonatrach, accrédité au référentiel ISO CEI 17025 en 2009.

1. Prélèvement des échantillons

Dans le cadre de cette étude, un échantillonnage a été effectué au niveau de la station El-Karma. Le choix du site de prélèvement des échantillons a reposé principalement sur l'accès facile, la disponibilité des espèces et l'homogénéité morphologique des parcelles (Kadem, 2005).

La période de prélèvement a été répartie dans le temps :

- Le premier prélèvement a eu lieu au début du mois de juin de l'année 2019 (01/06/2019).
- Le deuxième prélèvement a été effectué à la fin du mois de mai de l'année 2021 (28/05/2021).

1.1. Sol

La méthode de prélèvement d'un échantillon de sol doit tenir compte des différentes cultures (Singh, 2015). Il s'agit alors de diviser la surface à analyser en 4 parcelles dont cinq stations qui composent l'échantillon ont été déterminées sur l'ensemble de chaque parcelle rectangulaire (Figure 6).

Une fois les points de prélèvement ont été désignés, nous avons décapé la surface avec une bêche afin d'obtenir une couche de terre uniformément épaisse puis nous avons enfoncé une tarière à 15 cm de profondeur et nous avons prélevé 100 g du sol de chaque angle. Ces échantillons sont ensuite déposés dans des sacs en papier pour éviter toute contamination possible.

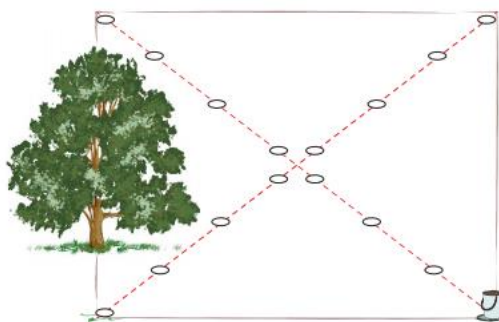


Figure 6: Prélèvement en diagonal (MVAD - Cirad, 2019).

1.2. Eau

Deux points ont été utilisés pour l'échantillonnage des eaux souterraines : l'un était un écoulement d'eau de pluie utilisé pour l'irrigation, et l'autre était de l'eau de puits également utilisée pour l'irrigation ainsi que pour la consommation humaine. Pour y parvenir, on a rempli jusqu'au bord (afin d'éviter les échanges avec l'air) des bouteilles en plastique de capacité de 0,5 L (500 ml) libellées (date de prélèvement, le nom d'eau souterraine) et conservées dans un endroit sombre et frais. Ces flacons ont été lavés 5 minutes avant le prélèvement pour s'assurer que l'eau est représentative de celle circulant dans le système (Brais, 2009).

1.3. Végétation

La plus forte teneur en métaux lourds s'accumule dans les feuilles (Artwell et *al.*, 2017), mais à un moindre degré dans les tiges, les fruits et les graines (Amin et *al.*, 2018). A cette fin, l'analyse des plantes a porté sur les parties aériennes : feuilles, gousses, féveroles, épis et pailles de blé.

A chaque point de prélèvement, des échantillons de pomme de terre, pois chiche, lentilles et blé, sont prélevés et placés dans des sacs en papier qui bloquera la photosynthèse.

1.4. Vers de terre

Les vers adultes ont été récoltés par prélèvement manuel à profondeur d'environ 40 cm du sol (Bouché, 1975a) et stockés à température ambiante dans des récipients avec du sol humide.

2. Prétraitement des échantillons

Tous les prélèvements des sols, des eaux, de végétaux et de vers de terre réalisés sur les différents sites d'études subissent les traitements appropriés afin de déterminer leurs propriétés physico-chimiques et leurs teneurs en éléments traces métalliques.

2.1. Sol

Le prétraitement de l'échantillon a pour objectif d'obtenir un échantillon composite du sol d'origine. Ces échantillons ont subis tous les préparatifs préliminaires à une éventuelle analyse de sol : séchage, émottage et tamisage à 2 mm (AFNOR - NF X31-101, 1992).

- En effet, les échantillons reçus au laboratoire sont aussitôt répartis sur des plateaux dont la couche ne doit pas dépasser 5 cm d'épaisseur et séchés dans une étuve ventilée à 40 °C en 24 h (ISO 11464, 2006).
- Une fois séchés, les échantillons sont broyés au mortier et tamisés avec un tamis à 2 mm.
- A la suite du tamisage, la terre fine (inférieure à 2 mm) est pesée.
- Généralement, après chaque tamisage on conserve les poudres de terre dans des boîtes.

Certains dosages sont réalisés sur les terres fines (propriétés physico-chimiques du sol) tandis que pour d'autres, il convient de broyer et passer l'échantillon sol au tamis de 0,2 mm (Nalovic et *al.*, 1968a).

2.2. Eau

Pour une analyse à la spectrométrie, l'échantillon d'eau est conservé par acidification (pH < 2) en ajoutant 0,5 ml d'une solution de HNO₃ à 50 % pour 125 ml d'échantillon. La solution sera stockée à 4 °C (ISO 135301, 2009).

2.3. Végétation

Dans une étuve ventilée, les échantillons végétaux sont séchés 24 heures à 70 °C dans des récipients appropriés. A ne pas dépasser cette température, car cela pourrait entraîner la perte de certains éléments volatils, en particulier l'azote (Anonyme, 2010). Ensuite, on les a broyé et tamisé à 2 mm pour éliminer les agrégats, on a déterminé ainsi leur poids sec : au moins 50 g de matière sèche à chaque analyse standard (Martin, 1979).

2.4. Vers de terre

Les vers de terre échantillonnés sont dégelés et égouttés sur papier filtre, séchés à 105 °C durant 24 heures. Les échantillons sont ensuite broyés et tamisés à 2 mm pour les rendre homogènes (Iordache et Borza, 2012).

3. Analyse physico-chimique du sol

Les analyses physico-chimiques reposent sur certains paramètres physiques (pH, granulométrie...) et chimiques du sol (matière organique, conductivité électrique, carbone et azote totaux...). Pour les métaux lourds, Bisone (2012) a rappelé que de telles analyses pédologiques sont incontournables pour mieux comprendre la mobilité et la disponibilité des métaux lourds dans le sol.

3.1. Mesure du pH, norme AFNOR NF X31-103

Le pH est mesuré selon la méthode électrométrique à l'aide d'un pH-mètre à électrode de verre dans une suspension. Le rapport liquide-sol est de 1/2,5. En effet, on mélange 50 ml d'eau distillée ajoutés à 20 g de terre fine dans un bécher de 100 ml. Après 2-3 heures de contact, on plonge les électrodes avec précaution dans la suspension sur l'agitateur magnétique en marche (Nalovic et *al.*, 1968a).

3.2. Analyse granulométrique, norme AFNOR NF X31-107

La terre est dispersée au pyrophosphate de sodium par agitation après la destruction de la matière organique par l'eau oxygénée. Les fractions argileuses (de 0 à 2 μm) et limoneuses (limons fins de 2 à 20 μm) sont déterminées par sédimentation suivant la loi de Stokes. Les fractions de limons grossiers (20 à 50 μm) et celles de sable (sables fins de 50 à 200 μm ; sables grossiers : 200 μm à 2 mm) sont déterminées par le tamisage à sec (Nalovic et *al.*, 1968b).

3.3. Matière organique, norme NF ISO 10694

Un mélange de bichromate de potassium et d'acide sulfurique est ajouté pour oxyder le carbone organique en dioxyde de carbone. Le bichromate en excès est dosé avec une solution de sel de Mohr (Walkley and Black, 1934).

3.4. Détermination de la teneur en carbone total (C), norme AFNOR NF X31-109 (1993)

Le dosage par voie humide du carbone organique est décrit par Caria et *al.* (2007). Le carbone contenu dans le sol est oxydé par une solution de dichromate de potassium en milieu sulfurique à 135 °C. Une réduction du chrome VI en chrome III se produit en présence de la matière organique. La teneur en chrome III, proportionnelle à la teneur en carbone organique du sol, est mesurée par colorimétrie.

3.5. Détermination de la teneur totale en azote (N), norme AFNOR NF ISO 11261 (1995)

Le dosage de l'azote total est déterminé selon la méthode de Kjeldahl par la transformation de l'azote en ammonium (NH_3) à l'aide d'un catalyseur à base du cuivre et du titane (Scheiner, 2005).

3.6. Détermination du phosphore total (P), norme AFNOR NF ISO 14672 (2005)

Le phosphore des échantillons brutes est minéralisé à 121 °C avec du persulfate de potassium. Le dosage du phosphore total s'effectue ensuite par spectrophotométrie.

3.7. Mesure de la conductivité électrique (CE), norme AFNOR NF ISO 11265 (1994)

La conductivité électrique est la capacité d'une solution à faire passer un courant électrique. Sa mesure est réalisée entre deux électrodes de platine placées en parallèle et elle est exprimée en milli-Siemens par unité de longueur (mS/cm).

4. Analyse fongique du sol

4.1. Isolement des champignons

Les champignons ont été isolés et dénombrés à l'aide de la technique de suspension-dilution et d'étalement sur milieu gélosé préconisée par Davet and Rouxel (1997).

4.1.1. Préparation des milieux de culture

Le PDA (Potatoes Dextrose Agar, pomme de terre glucosée et gélosée) se considère comme un milieu favorable de développement des champignons, ainsi à la production des spores (Botton et *al.*, 1990) car l'amidon et le glucose sont les principaux aliments de la plupart de ces derniers. La procédure de la préparation est la suivante :

- Faire cuire 200 g de pommes de terre pelées, lavées et coupées en tranches fines dans 1 L d'eau pendant une heure.
- Filtrer le liquide avec une passoire dans une bouteille en verre.
- Ajouter 20 g de dextrose (glucose) et 20 g d'agar-agar en poudre et compléter à 1 L si nécessaire.
- Autoclaver pendant 20 min à 120 °C.

4.1.2. Préparation des suspensions-dilutions

Les champignons ont été dénombrés à l'aide de la méthode de dilution en série afin de minimiser les champignons (Waksman, 1922). Pour chaque échantillon, 1 g de terre fine tamisée à 2 mm est mis en suspension dans 100 ml d'eau distillée stérile. La solution est agitée pendant 15 min à l'aide d'un agitateur magnétique puis laisser décanter 15 min. La suspension obtenue est équivalente à une dilution de 10^{-1} . Un ml de la solution mère est versé dans un bécher contenant 99 ml d'eau distillée stérile, c'est la dilution 10^{-2} . La dilution se fait jusqu'à 10^{-6} .

Pour l'isolement, on a ajouté 25 mg d'antibiotique antibactérien (Streptomycine) à 0,5 L du PDA. Le milieu a été dispensé dans 16 boîtes de Pétri stériles pour chaque échantillon. L'incubation des boîtes a été réalisée à une température 25 C° pendant 4-7 jours.

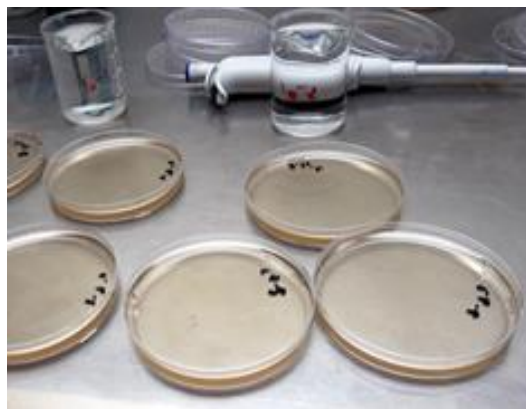


Figure 7: Isolement des champignons sur milieu PDA (Benhalima H., 2019).

4.2. Purification

Après repiquage, la purification s'effectue par transfert des colonies développées sur des boîtes contenant le milieu de culture PDA. Le repiquage consiste à prélever avec une aiguille stérile un fragment mycélien à la marge du thalle, et de le transférer sur le milieu PDA. L'inoculum est mis au centre de la boîte. Après cette opération, les boîtes de Pétri sont entourées du papier parafilm et incubées à une température de 28 C°, pendant 4 à 6 jours. Cette méthode est répétée jusqu'à l'obtention des colonies pures.

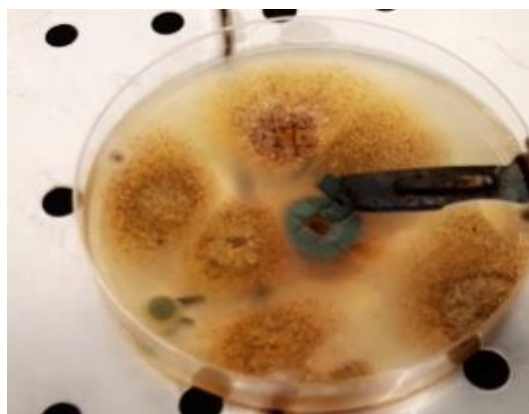


Figure 8: Repiquage (Benhalima H., 2019).

4.3. Identification des isolats fongiques

Les isolats ont été identifiés sur la base de la morphologie et le caractère de la colonie, de la culture, et de la structure des spores (Gilman, 1957; Kichu et *al.*, 2019; Nagamani, 2006).

4.3.1. Identification macroscopique

L'observation macroscopique des moisissures permet de caractériser l'aspect et la couleur des colonies. Le blanc, crème, jaune, orange, brun allant jusqu'au noir sont les couleurs les plus fréquentes. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*) (Botton et *al.*, 1990).

4.3.2. Identification microscopique

Une colonie fongique est examinée au microscope après étalement entre la lame, le scotch et la coloration. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants (Chabasse et *al.*, 2002). L'observation microscopique permet de détecter la présence du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature, la reproduction et les caractéristiques des fructifications et des spores (Chabasse et *al.*, 2002).

5. Analyse des métaux lourds

5.1. Extraction des échantillons

Pour l'analyse des métaux lourds, la méthode de mise en solution est appliquée par attaque acide (Jeannot et *al.*, 2001).

Selon la méthode de Hoenig (1990), la minéralisation du sol s'effectue sur 1 g de poudre d'échantillons sol sec tamisé à 2 mm, avec un mélange de 3 ml d'acide chlorhydrique et 1 ml d'acide nitrique (eau régale). Le tout est agité avec un agitateur sous la hotte puis chauffé jusqu'à ébullition dans un bain de sable durant 15 minutes. Après refroidissement, le produit obtenu est filtré avec un papier filtre dans une fiole de 50 ml. Ce filtra est ensuite ajusté à 50 ml avec une dilution appropriée avant l'analyse.

Le procédé d'extraction pour les végétaux consiste à ajouter à 1 g d'échantillon de plante en poudre fine, 3 ml d'eau oxygénée à 30 % et 3 ml d'acide nitrique concentré et maintenir une ébullition de solution durant 1 heure. Une fois refroidi, le résidu est rincé, filtré et transféré dans une fiole jaugée de 50 ml, puis complété au trait de jauge (Huang et *al.*, 2004).

Le protocole de minéralisation des tissus animaux est similaire à celui décrit précédemment pour les végétaux (Maher et *al.*, 2016). Les blancs sont soumis aux mêmes conditions que les essais.

5.2. Analyse spectrométrique des échantillons

La spectrométrie à plasma à couplage inductif – ICP de type PERKIN-ELMER (Figure 9) a été utilisée pour déterminer les métaux lourds dans tous les échantillons du sol, faune et flore (Thompson and Walsh, 1989).



Figure 9: ICP-OES OPTIMA 8000 PERKIN-ELMER (Benhalima H., 2019).

5.3. Critères de qualité pour les métaux sélectionnés

Dans cet essai, deux critères de sélection ont été utilisés pour déterminer les contaminants qui feraient l'objet d'une évaluation de risques pour la santé humaine et environnementale, à savoir :

- Les concentrations mesurées des contaminants doivent dépasser les critères de qualité A pour les sols tirés de la circulaire du 4 février 2000 sur les valeurs cibles de l'institut national de la recherche agronomique pour la dépollution des sols agricoles (Baize et Tercé, 2002) ; de la Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés (MENV, 1998) et (MDDEP, 2011e) ; et de la réunion du comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (FAO/WHO, 1996).
- Des valeurs de référence adéquates sont disponibles pour procéder à leur évaluation.

Les métaux suivants ont été sélectionnés : le cadmium, le chrome, le cuivre, le fer, le manganèse, le nickel, le plomb et le zinc. En effet, une étude précédente menée par Laib et al. (2020) a mis en évidence la présence de certains métaux, à savoir le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le chrome (Cr), le nickel (Ni), le cadmium (Cd) et le plomb (Pb), en concentrations élevées dans les sols de la ferme pilote Chaibi Larbi d'El-Karma. Suite à cela, nous avons procédé à des prélèvements de sols suivis d'analyses métalliques afin de confirmer ces résultats obtenus dans la ferme pilote, et ainsi réaliser une évaluation des risques associés à la contamination des sols par ces métaux lourds.

Les valeurs indiquées dans le tableau (7) concernent les teneurs en éléments traces dans les plantes, considérant que la phytoaccumulation de ces éléments par les différentes espèces et variétés végétales n'est pas de même amplitude et que les apports en ETM diffèrent entre les sols (Tremel-Schaub and Feix, 2005b).

5.3.1. Critères de qualité pour les sols agricoles

Les valeurs cibles (en gras) sont celles prises en considération dans notre étude (Baize et Tercé, 2002).

Tableau 4: Différentes normes et références de teneurs totales en métaux lourds dans les sols (en mg/kg) (Baize et Tercé, 2002).

Pays-Bas (1987)	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
Valeurs de référence A	0,8	100	36	35	85	140

Tableau 5: Teneurs critiques en oligo-éléments dans les sols en mg/kg (Fageria et al., 2002).

Elément	Toxicité
Cuivre	125
Manganèse	1000 – 3000
Fer	100 - 100000*

Zinc	400
Nickel	100

* Valeurs de référence A du Fer dans les sols (Shacklette et Boerngen, 1984)

5.3.2. Critères de qualité pour les eaux souterraines

Tableau 6: Critères de qualité pour les eaux souterraines (en µg/L).

Métaux	Eau de consommation ^{1,2}	Eau souterraine ³	Eau d'irrigation ⁴
Cadmium	5	2,1	10
Chrome	50	-	550
Cuivre	1000	7,3	17
Manganèse	50	-	200
Nickel	20	790	1400
Plomb	10	34	65
Zinc	5000	65	200
Fer	200*	-	500

Références :

* Fer (Décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles, 2001)

1 : (Santé Canada, 1992c)

2 : (MENV, 1998)

3 : (MDDEP, 2011c)

4 : (FAO/WHO, 1996)

5.3.3. Valeurs des éléments-traces dans les végétaux

Tableau 7: Teneurs moyennes internationales en ETM dans les végétaux (en mg/kg de matière sèche).

Métaux	Mondiale
Cadmium	< 0,1-1
Chrome	0,01-1
Cuivre	3-15
Fer	450*
Nickel	0,1-5
Plomb	1-5
Zinc	15-150

Références :

* Normes FAO/OMS, 1984 pour Fe dans les denrées alimentaires (Dan-Badjo et al., 2013)

(Tremel-Schaub and Feix, 2005b)

6. Analyse statistique

Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour comparer les moyennes des différentes variables pour chaque sol étudié selon l'hypothèse nulle ($H_0 : m_{\text{Sol } S1} = m_{\text{Sol } S2} = m_{\text{Sol } S3} = m_{\text{Sol } S4}$). Le seuil de signification a été considéré à une valeur de probabilité (P) inférieure à 5 %. Enfin, un test de corrélation de Pearson a été réalisé pour estimer la relation entre les différents métaux mesurés dans les sols d'El-Karma.

Partie 2 : Evaluation de la toxicité des métaux lourds chez des modèles biologiques

L'étude in situ a été effectuée au Laboratoire de Physiologie Végétale du Département de Biologie de l'Université d'Annaba. Et l'étude in vivo a été réalisée au niveau du laboratoire Pédagogique de Physiologie Animale de l'Université Badji Mokhtar - Annaba.

1. Etude in situ

1.1. Matériel biologique

Le matériel végétal retenu est le blé tendre *Triticum aestivum* (Variété Belbejaoui) et le blé dur *Triticum durum* Desf. (Variété Ammar 6). Le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* a fait aussi l'objet de cette étude.

1.2. Prélèvement des échantillons

Des échantillons de blé tendre (*Triticum aestivum*) et de blé dur (*Triticum durum* Desf.) ont été prélevés dans des zones potentiellement contaminées par des métaux lourds. Puis ils ont été placés dans des sacs papiers permettant de bloquer la photosynthèse et ensuite transmis au laboratoire.

Par ailleurs, des vers de terre adultes avec un clitellum bien développé ont été prélevés en hiver (10 mars 2021). Cette saison de pluie est favorable pour les prélèvements de macrofaune du sol (Rakotomanga et al., 2016). L'échantillonnage a été pratiqué manuellement et de manière aléatoire dans quatre sites différents (S1, S2, S3, S4) selon la méthode de Bouché (1975). Les échantillons de vers de terre ont été placés dans des boîtes en polyéthylène (cinq vers de terre par boîte) et transportés au Laboratoire Pédagogique de Physiologie Animale du Département de Biologie de l'Université d'Annaba.



Figure 10: Elevage des vers de terre (Benhalima H., 2021).

1.3. Identification des vers de terre

Les espèces recueillies ont été identifiées à l'état vivant sur la base des caractéristiques morphologiques telles que la longueur, la gradation des couleurs, le nombre et la disposition des segments (Kurth and Kier, 2015). Les espèces ont ensuite été fixées au formol à 4 % et identifiées selon les caractéristiques externes et internes de Bouché (1972) à l'aide d'un microscope binoculaire.

1.4. Sélection de l'espèce

Notre choix s'est porté sur les vers de terre *Aporrectodea caliginosa*. Leur longueur varie entre 50 à 150 mm, et leur diamètre entre 2 à 4 mm (Figure 11). Ces espèces appartiennent à la famille des Lumbricidae. C'est un ver de terre endogène d'une couleur marron ou rouge violacé zébrée à fouissement horizontalement.



Figure 11: *Aporrectodea caliginosa* (Benhalima H., 2021).

1.5. Position systématique du ver de terre choisi

Le tableau 8 affiche la systématique du ver de terre *Aporrectodea caliginosa*.

Tableau 8: Systématique du ver de terre *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826).

Règne	Animalia
Embranchement	Annelidae
Classe	Clitellata
Sous-classe	Oligochaeta
Ordre	Crassiclitellata
Famille	Lumbricidae
Genre	<i>Aporrectodea</i>
Espèce	<i>Aporrectodea caliginosa</i>

1.6. Préparation des tissus

Pour les différents dosages, les vers de terre sont laissés à jeun pendant 48 heures afin que leur appareil digestif soit vide. Après dissection, 5 fragments ont été retenus pour chaque biomarqueur testé.

2. Etude in vivo

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Le blé dur *Triticum durum* Desf.

Le blé dur *Triticum durum* Desf. (Variété Ammar 6) a fait l'objet de cette étude. Les graines ont été fournies par la Coopérative de Céréales et de Légumes secs (CCLS) d'El-Hadjar à Annaba. D'après la classification botanique de Feillet (2000), le blé dur est une plante monocotylédone classée comme suit :

Tableau 9: Classification botanique du blé dur (Feillet, 2000).

Embranchement	Angiospermes
Sous embranchement	Spermaphytes
Classe	Monocotylédones
Super Ordre	Commeliniflorales
Ordre	Glumiflorales
Famille	Gramineae ou Poaceae
Tribu	Triticeae
Sous tribu	Triticineae
Genre	Triticum
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf.

2.1.2. Le ver de terre *Aporrectodea giardi*

Le deuxième matériel biologique utilisé dans notre travail est le ver de terre *Aporrectodea giardi*. Le tableau 10 affiche la position systématique du ver de terre choisi.

Tableau 10: La position systématique *Aporrectodea giardi* (Ribaucourt, 1901).

Règne	Animalia
Embranchement	Annelidae
Classe	Clitellata
Sous-classe	Oligochaeta
Ordre	Crassiclitellata
Famille	Lumbricidae
Genre	Aporrectodea
Espèce	<i>Aporrectodea giardi</i>

2.2. Matériel chimique

Quatre mélanges (M1, M2, M3, M4) composés de : Chlorure de Cadmium (CdCl₂), Chlorure de Chrome (CrCl₂), Sulfate de Cuivre (CuSO₄), Sulfate de Nickel (NiSO₄), Sulfate de Manganèse (MnSO₄), et de Sulfate de Fer (FeSO₄), ont été utilisés dans notre étude comme source de pollution métallique représentée par différentes combinaisons dans le tableau 11. Les concentrations utilisées dans cette étude ont été obtenues à partir des concentrations en métaux lourds dans quatre sites agricoles situés à proximité de l'industrie sidérurgique d'El-Hadjar (Algérie). Après une analyse des éléments traces dans ces sols, les concentrations initiales ont été calculées pour 10 g de terreau dans le cas du blé dur et pour 500 g de sol dans le cas du ver de terre. Les variétés non traitées représentent les témoins.

Tableau 11: Composition des mixtures testées.

Mixtures	Concentrations en métaux lourds dans le cas du blé dur (mg/10 g de terreau)						Concentrations en métaux lourds dans le cas du ver de terre (mg/500 g de sol)					
	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni
Témoin (T)	Terreau + solution nutritive						Sol					
Mixture (M 1)	0,12	1,71	0,38	308,32	11,10	0,46	6	85,5	19	15416	555	23
Mixture (M 2)	0,07	1,09	0,32	224,92	7,91	0,35	3,5	54,5	16	11246	395,5	17,5
Mixture (M 3)	0,07	1,07	0,3	207,22	6,60	0,32	3,5	53,5	15	10361	330	16
Mixture (M 4)	0,09	1,02	0,28	199,82	7,38	0,31	4,5	51	14	9991	369	15,5

2.3. Conduite de l'essai

2.3.1. Cas du blé dur

2.3.1.1. Préparation des graines

Des graines de blé dur (*Triticum durum* Desf.) choisies sont désinfectées par une solution d'hypochlorite de sodium à 5 % pendant 3 minutes, rincées abondamment à l'eau distillée (Ferfar et al., 2016). Les graines de blé dur sont choisies soigneusement et méticuleusement avant leur utilisation, elles doivent être saines et ne présente aucune anomalie visible (pas de cassure ni signes apparents de maladies).

2.3.1.2. Essai en pots

Le semis des graines se fait dans des alvéoles en plastique, contenant du terreau désinfecté (10 g), en moyenne de deux graines par alvéole. Les graines sont semées dans des trous d'environ 1 cm de profondeur, réalisés à l'aide d'un crayon.

2.3.1.3. Irrigation et fertilisation

L'irrigation se fait chaque deux ou trois jours par de l'eau distillée selon la demande en eau de la plantule. Alors que l'amendement en sels minéraux est assuré tous les 15 jours par une solution nutritive modifiée dont la composition est mentionnée dans le tableau 12. Cette solution élimine la présence de $MnSO_4$ et de $CuSO_4$ afin de maintenir les conditions du stress métallique appliqué.

Tableau 12: Solution nutritive modifiée (Hooshang and Jan-Erik, 1996).

Sels	Poids (g/L)	Quantité (ml/L)
KNO_3	100,1	5
KH_2PO_4	136,09	1
Citrate de fer	38,91	1
$ZnSO_4$	0,28	1
H_3BO_3	1,85	1
$MgSO_4$	246,4	1
$CaCl_2$	147	1

2.3.2. Cas du ver de terre

2.3.2.1. Technique d'élevage

Un échantillonnage de vers de terre est réalisé manuellement dans le site témoin de Seraïdi en utilisant la méthode de Bouché (1975). L'élevage de vers de terre s'est effectué dans des boîtes en plastique contenant du sol contaminé par différents métaux dans le laboratoire de physiologie végétale de l'Université d'Annaba (Figure 12).



Figure 12: Elevage des vers de terre (Benhalima H., 2020).

2.3.2.2. Identification des vers de terre

L'identification des vers de terre a été mentionnée auparavant dans l'étude in situ. En effet, les spécimens collectés ont été identifiés selon la méthode de Bouché (1972).

2.3.2.3. Sélection de l'espèce

Notre choix s'est porté sur les vers de terre adultes (avec un clitellum), conservés dans des terrariums, au laboratoire. Leur longueur varie entre 10 à 110 cm et d'une couleur brune, grise claire avec un gradient antéropostérieur (Figure 13).



Figure 13: *Aporrectodea giardi* (Benhalima H., 2020).

2.3.2.4. Essai toxicologique

Pour réaliser ce test de toxicité, il est essentiel d'avoir des conditions environnementales optimales pendant la période d'exposition. Ces conditions expérimentales sont détaillées dans le tableau 13.

Tableau 13: Conditions expérimentales.

Espèce	<i>Aporrectodea giardi</i>
Sol naturel	Sable fin et grossier : 71 % Limon : 19 %

	Terre noire : 4 % Argile : 6 %
Hydratation et % humidité	80 % du taux maximal de rétention en eau Hydratation au début du test si nécessaire
Luminosité	Aucune
Type de contenant de test	Contenants de 1000 ml en polyéthylène Couvercle transparent percé de petits trous
Quantité de sol par contenant	500 g sec
Nombre de vers par contenant	4
Nombre de réplicats	3 répétitions
Durée du test	12 et 24 jours
Paramètres de mesure	Prot, GSH, MT, SOD, CAT, LOX
Statistiques	L'ANOVA et le test de Tukey



Figure 14: Dispositif expérimental (Benhalima H., 2020).

2.3.2.5. Dissection des vers de terre

Après chaque période de traitement, les vers de terre ont été lavés à l'eau du robinet pour enlever la saleté de la surface puis conservés dans 0,65 % de NaCl à température ambiante pendant 1 à 2 heures jusqu'à ce que leur système digestif soit propre (Anitha et Jayraaj, 2012). Après la dissection, on prélève 5 fragments pour les différents dosages.



Figure 15: Dispositif de jeun des vers de terre avant dissection (Benhalima H., 2020).

3. Paramètres étudiés

3.1. Paramètres germinatifs et morphométriques du blé *in vivo*

3.1.1. Taux de germination (TG)

Le pourcentage de graines germées par rapport aux graines semées au début pendant un temps donné (chaque quinzaine du traitement) a été calculé en fonction de facteurs internes (dormance embryonnaire et inhibitions tégumentaires) et de facteurs externes de germination (température, humidité et lumière, etc.) (Kabil *et al.*, 2016).

3.1.2. Longueur moyenne de la première feuille (LMF)

Après 1 mois de mise en culture, la longueur de la première feuille de chaque graine de blé germée est mesurée à l'aide d'un ruban mètre. La longueur moyenne est calculée pour chaque pot et pour chaque condition de traitement.

3.2. Paramètres biochimiques

3.2.1. Biomarqueurs non enzymatiques

- **Dosage des protéines totales**

Les protéines totales sont dosées par colorimétrie selon la méthode de Bradford (1976), qui consiste à mesurer la concentration des protéines en solution par analyse spectroscopique et ce en broyant 100 mg de matière fraîche avec 5 ml d'eau distillée.

Après filtration, un échantillon de 0,2 ml du surnageant est prélevé auquel on ajoute 2 ml de BBC (réactif de Bradford). Le principe de la méthode est basé sur la fixation du Bleu de Commassie sur les protéines au niveau de résidus basiques et aromatiques, la présence de protéines se révèle par une coloration bleue. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La quantité en protéines est exprimée en mg/ml dont l'Albumine Sérum bovine (BSA) est utilisée comme standard.

- **Dosage de glutathion (GSH)**

8 ml de phosphate de potassium, 100 mM à froid (pH 6,5) a été ajouté à 1 g de matière fraîche, broyées en une poudre fine avec du mortier. L'homogénat est centrifugé à 4 °C pendant 15 min à 5000 g (centrifugeuse Sigma 3-16K). Le surnageant récupéré est utilisé pour le dosage.

Le principe de ce dosage est basé sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro 5-mercaptopurique, résultant de la réduction de l'acide 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman) par les groupes glutathion (-SH). Le glutathion est déterminé par la méthode de Weckbecker and Cory (1988) au spectrophotomètre selon la formule suivante :

$$GSH \text{ (nmol GSH/mg protéine)} = \frac{Do \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de protéines}}$$

- Do : densité optique.
- 1 : le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml homogénat + 0,2 ml SSA).
- 1,525 : le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5 ml surnageant + 1 ml Tris EDTA + 0,025 ml DTNB).
- 13,1 : coefficient d'absorbance à 412 nm associé à la présence du groupement -SH.
- 0,8 : le volume de l'homogénat trouvé dans 1 ml.
- 0,5 : le volume du surnageant observé dans 1,525 ml.

- **Dosage des thiols non protéiques acido-solubles (SH_T)**

Une quantité de 500 mg de matière fraîche (racines ou parties aériennes) est broyée au mortier à 4 °C avec 1,5 ml de tampon d'extraction composé d'acide sulfosalicytique à 5 % (p/v) et 6,3 mM de DETAPAC. Les extraits sont ensuite centrifugés à 13 000 g pendant 30 min à 4 °C. L'acide sulfosalicytique (SSA) permet de précipiter les protéines et de conserver dans le surnageant les groupes thiols d'acides aminés libres (cystéine) et d'oligopeptides (glutamylcystéine, glutathion, phytochélatines).

Le dosage des thiols totaux est obtenu en mélangeant 200 µl de surnageant avec 630 µl de 0,5 M K₂HPO₄ à pH 7,5 et 25 µl de DTNB (extemporanément préparés dans un tampon stock (143 mM K₂HPO₄ contenant 6.3 mM DTAP, pH 7.5).

Le réactif d'Ellman (DTNB) oxyde les groupes thiols pour donner du 5-thio-2-nitrobenzoate, un composé jaune dont la DO est mesurée au spectrophotomètre à 412 nm après 2 min à 30 °C.

L'augmentation de l'absorbance de l'échantillon avant et après l'addition de DTNB est corrigée par l'absorbance du réactif DTNB lui-même. Ceci est réalisé avec un essai à blanc où le surnageant est substitué par 300 µl de tampon d'extraction. Les concentrations de SH_T sont calculées en utilisant le coefficient d'extinction molaire du DTNB, qui est de $\epsilon = 13600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Ellman, 1959).

- **Estimation des teneurs en phytochélatines (PCs)**

La soustraction de la teneur du glutathion réduit et de celle des thiols non protéiques acido-solubles (pH < 1) totaux est utilisée comme une estimation des phytochélatines (PCs) :

$$PC = SHT \text{ (thiols non protéiques totaux)} + GSH$$

- **Dosage de la métallothionéine (MT)**

Les techniques analytiques citées précédemment pour le dosage des biomarqueurs non enzymatiques chez le blé dur in vivo ont été répétées pour l'expérimentation sur les vers de

terre. Dans ce cas, seuls les dosages des thiols non protéiques acido-solubles (SH_T) et des phytochélatines (PC) ont été remplacés par le dosage de la métallothionéine (MT).

Le dosage de la MT a été déterminé par la méthode spectrophotométrique de Viarengo *et al.* (1997) selon les étapes suivantes :

- Prélever 1 ml de l'échantillon à quantifier.
- Ajouter 1,05 ml d'éthanol absolu froid (- 20 °C) et 80 μl de chloroforme.
- Mélanger au vortex pendant quelques secondes.
- Centrifuger à 6000 g pendant 10 min à 4 °C.
- Récupérer le surnageant et lui ajouter 3 volumes d'éthanol absolu froid (- 20 °C).
- Ajouter 1 mg d'ARN et 40 μl d'acide chlorhydrique (HCl) à 37 %.
- Mélanger au vortex pendant quelques secondes.
- Conserver le mélange à - 20 °C pendant une 1 heure.
- Centrifuger à 6000 g pendant 10 min à 4 °C.
- Éliminer le surnageant.
- Laver le culot avec 3 ml de la solution de lavage.
- Centrifuger à 6000 g pendant 10 min à 4 °C.
- Après avoir éliminé le surnageant, il est nécessaire de faire sécher le culot.
- Ajouter 150 μl de la solution d'HCl qui contient de l'EDTA et 150 μl de la solution de NaCl au culot.
- Agiter au vortex pendant quelques secondes jusqu'à ce que le culot soit complètement remis en suspension.
- Ajouter 4,2 ml du réactif d'Ellman.
- Centrifuger à 3000 g pendant 5 min.
- Prélever le surnageant.
- Effectuer la mesure de l'absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 412 \text{ nm}$.
- La lecture doit être effectuée en comparant avec un blanc préparé dans les mêmes conditions, en utilisant du tampon d'homogénéisation à la place du surnageant.
- Tracer la courbe d'étalonnage : Absorbance = f (concentration en GSH).
- À partir des résultats obtenus sur la gamme étalon, chacun des échantillons est alors déduit.
- La concentration en MT est déduite à partir de la quantité de GSH (1 mol de MT-SH = 20 mol de GSH).
- La quantité en MT est exprimée en fonction de la quantité du tissu gonadique homogénéisée (nmol/mg de tissu).

3.2.2. Biomarqueurs enzymatiques

- **Préparation de l'extrait enzymatique**

Pour les différentes matrices végétales, la méthode utilisée est celle de Loggini *et al.* (1999). Les racines et les parties aériennes sont broyées avec un tampon d'extraction dans un mortier maintenu dans la glace. Le tampon comprend 5 ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7,8) pour 0,5 g de matière fraîche. Le broyat est ensuite centrifugé à 12 000 g pendant 20 min.

Le surnageant récupéré représente l'extrait enzymatique du matériel végétal (Sbartai et *al.*, 2008b).

Quant à l'extraction des enzymes à partir des muscles de ver de terre, la procédure est différente de celle des plantes. Les étapes d'extraction sont réalisées à froid afin d'éviter l'altération de l'enzyme. Les vers de terre ont été placés sur un bac à glace pour les engourdir, dès qu'ils ne bougent pratiquement plus, on coupe la tête et la queue à 1 cm de l'extrémité. Ensuite, le corps est bien rincé à l'eau distillée froide, puis broyé dans un mortier avec 25 ml d'eau distillée glacée, et enfin passé dans un homogénéisateur. L'homogénat obtenu est ensuite filtré puis centrifugé à 6000 g pendant 20 min à 4 °C. Le surnageant qui contient l'enzyme est récupéré, fractionné en aliquotes de 2-5 ml et conservé à -20 °C jusqu'à l'utilisation (Source modifiée : Q. Zhang et *al.*, 2013).

- **Dosage de la catalase (CAT)**

Les 100 mg poids frais des échantillons sont mélangés avec 1 ml de tampon phosphate (100 mM, pH 7,4) froid avec un rapport 1:10 (v:v), ensuite homogénéisés par homogénéisateur électrique. Les homogénats ont été centrifugés à 10 000 g/min pendant 10 min à 4 °C (Aebi, 1983).

Le dosage est effectué selon la technique de Claiborne (1985). 50 µl d'H₂O₂ à 0,3 % et 2850 µl de NaK sont ajoutés à 100 µl d'extrait enzymatique. L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique (blanc). La lecture de l'absorbance est effectuée à 240 nm pour un coefficient d'extinction linéique molaire $\epsilon = 39400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. L'activité catalase est calculée en fonction de la concentration protéique de l'échantillon (µmol/min/mg de protéines) selon la formule suivante :

$$Act = \frac{\Delta Do \times Vt}{\epsilon \times \Delta t \times L \times Ve \times P}$$

- Act : activité en nmol/min/mg de protéines.
- ΔDo : différence moyenne de l'absorbance.
- ϵ : coefficient d'extinction linéique molaire en M ($39400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).
- Vt : volume totale du mélange réactionnel en ml (3 ml).
- Ve : volume de l'extrait enzymatique en ml (0,1 ml).
- L : largeur de la cuve de mesure en cm (1 cm).
- P : quantité de protéines exprimée en mg.
- T : temps de lecture en min (1 min).

- **Dosage de l'activité lipoxygénase (LOX)**

Les échantillons sont broyés dans un mortier en présence d'un tampon d'extraction composé de 50 mM tampon phosphate (KH₂PO₄/K₂HPO₄ à pH 7), de 5 mM cystéine et 10 mM EDTA. L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé à 14 000 xg pendant 20 min et le surnageant est récupéré pour le dosage de l'activité lipoxygénasique.

L'activité LOX est évaluée selon la méthode de Axelrod and Cheesbrough (1983) par le suivi de l'augmentation de l'absorbance à 234 nm suite à la formation de doubles liaisons hydroperoxy-acides gras. La lecture se fait grâce à un spectrophotomètre (JENWAY 3600) qui mesure la densité optique toutes les 5 secondes pendant deux minutes.

Le milieu réactionnel, de volume final égal à 1 ml, est composé de 0,16 % tween-20 (v/v), tampon à 0,2 M glycine (pH 10), de 100 mM acide linoléique et de l'extrait enzymatique ajouté en dernier lieu. L'activité enzymatique de la lipoxygénase est calculée en utilisant la loi de Beer-Lambert avec un coefficient d'extinction molaire $\epsilon = 25\,000\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Le dosage se fait contre un blanc contenant le tampon phosphate (50 mM, pH 7) et l'acide linoléique.

3.3. Dosage des métaux lourds dans les tissus végétaux in vivo

Les plantes du blé dur ont été coupées séparément en feuilles et en racines, puis séchées à 70 °C pendant une journée et broyées avant d'être tamisées à 2 mm. Les échantillons ainsi préparés ont été mis en solution et leur teneur en éléments métalliques a été ensuite mesurée par ICP au centre de recherche et développement (ISO CEI 17025, 2009).

3.4. Analyse statistique

Les données ont été interprétées à l'aide de logiciel SPSS® 25.0 par l'analyse de la variance ANOVA suivie du test de Tukey avec un taux de signification de 0,05 comme suit :

- Si $P \leq 0,05$ il existe des différences significatives. *
- Si $P \leq 0,01$ il existe des différences hautement significatives. **
- Si $P \leq 0,001$ il existe des différences très hautement significatives. ***

Partie 3 : Evaluation des risques sanitaires, toxicologiques et écotoxicologiques (une approche intégrée)

Cette partie de l'étude se compose de trois sections distinctes. Tout d'abord, une enquête épidémiologique a été menée auprès des agriculteurs et des résidents vivant à proximité de la zone d'étude. Dans la deuxième et troisième sections, une évaluation des risques toxicologiques et écotoxicologiques a été réalisée. De manière générale, une évaluation des risques vise à estimer le potentiel ou la probabilité d'apparition des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement suite à leurs expositions à un ou plusieurs contaminants, en tenant compte de la source de pollution et du site étudié (Triffault-Bouchet *et al.*, 2011).

La contribution originale de cette seconde partie réside dans le fait que peu d'études ont été réalisées sur les risques sanitaires liés à la contamination des sols urbains par les métaux lourds (Karim and Qureshi, 2014). À ce jour, aucune de ces études n'a évalué les risques sanitaires ou environnementaux liés à la présence de métaux lourds dans les sols agricoles de la ville d'Annaba.

1. Evaluation du risque sanitaire des résidents et agriculteurs exposés

1.1. Conception de l'enquête

Une enquête par questionnaire a été conçue en mesure de fournir des données qui structureraient la méthode d'évaluation de risques. L'analyse de ces derniers permet d'estimer les risques toxicologiques pour deux scénarios d'exposition :

- Scénario 1 pour les travailleurs opérant au site.
- Scénario 2 pour les résidents vivant à proximité du site.

L'enquête a eu lieu entre mi-avril et mi-juin 2019.

1.2. Population étudiée

L'enquête a été menée auprès des travailleurs opérant au sol pollué et des résidents vivant à proximité de la zone d'étude.

- **Taille de l'échantillon**

L'échantillon a été constitué de 100 répondants dont 25 agriculteurs et 75 résidents dans les limites géographiques d'El-Karma ont été interrogés.

- **Collecte de données**

Pour chacune de ces populations, un questionnaire spécifique et individuel a été construit. Les questions ont été formulées en fonction de plusieurs variables : caractères

sociodémographiques (Sexe, âge...), connaissances de l'environnement, des risques et de l'état de santé.

Pour les habitants, les critères pris en compte étaient : durée de résidence, problèmes de substances odorantes émises et d'humidité au sein des logements, comportement et qualité de vie. En ce qui concerne les agriculteurs, certains paramètres ont été remplacés par d'autres, relatifs à leur activité, et aux mesures de protection adoptées (voir questionnaires en annexe 1 et 2).

1.3. Analyse statistique

Le traitement des données a été exécuté par le biais du logiciel SPSS, version 25.0. L'analyse statistique a fait appel aux tests de corrélation et du khi-deux pour mesurer l'impact d'un facteur (A) sur un autre (B). Dans la logique de ce test, deux hypothèses statistiques sont relevées, à savoir $H_0 : A = B$ et $H_1 : A \neq B$. Le seuil de signification est établi à 0,05.

2. Evaluation du risque toxicologique

2.1. Identification du danger

Une fois que les métaux lourds à considérer dans l'évaluation des risques ont été identifiés dans la partie 1, il s'agit d'établir les voies d'émission ou de contamination potentielles pour les deux scénarios d'exposition retenus (partie 2) : le scénario 1 concerne les travailleurs opérant au site contaminé. Tandis que le scénario 2, prend en considération l'exposition des résidents vivant à proximité du site.

Pour les deux scénarios, différentes voies d'exposition ont été retenues. Tout d'abord, l'inhalation de particules de sol, l'ingestion et le contact cutané avec le sol. La voie d'exposition par ingestion d'eau potable a été ainsi calculée, bien que l'on dispose de peu de données pour la consommation d'eau de surface et d'eau souterraine. Une estimation de l'exposition par ingestion d'aliments cultivés a également été réalisée. Toutefois, le risque d'exposition par contact cutané de l'air et des vapeurs n'a pas été pris en compte du fait de la faible volatilité des métaux.

Par conséquent, l'évaluation des risques toxicologiques dans cette étude se limite à l'inhalation de particules de sol, au contact cutané avec le sol et à l'ingestion de sol, d'eau souterraine et des aliments pour l'année 2019 et 2021. Les populations résidentielles concernées par cette évaluation des risques toxicologiques sont les nourrissons (< 0,5 ans), les jeunes enfants âgés de 0,5 à moins de 5 ans, les enfants âgés de 5 à moins de 12 ans, les adolescents âgés de 12 à moins de 20 ans et les adultes âgés de 20 ans et plus. Pour les travailleurs en agriculture, il s'agit uniquement des adultes. En fonction de ces différents groupes d'âge, les valeurs combinées pour les hommes et les femmes serviront à des fins de calcul.

2.2. Caractérisation toxicologique

Cette étape permet de déterminer les valeurs toxicologiques de référence (VTR) en tenant compte de la durée et de la voie d'exposition. En effet, plusieurs valeurs toxicologiques de référence sont disponibles (Valcke et al., 2012b). Les VTR fixées par les lignes directrices de l'INSPQ de 2012 et celles établies par le ministère de l'Environnement et de la Faune (MEF), l'Integrated Risk Information System (IRIS) de l'United States Environmental Protection Agency (USEPA), l'Institut national de la santé publique et de l'environnement (connu sous le nom de Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu - RIVM), ont été sélectionnées.

2.2.1. Valeurs de référence pour des effets non cancérogènes

Pour calculer le risque d'effets non cancérogènes par la méthode du Q-quotient, des valeurs toxicologiques de référence (VTR) qui correspondent à des valeurs estimées sans effet observé (VESEO) sont indispensables (Haber et al., 2017). Le tableau (14) présente les VTR retenues pour le calcul du risque toxicologique non cancérogène lié aux métaux concernés en fonction des deux voies d'exposition : l'inhalation et l'ingestion de sol. Aucune valeur de référence n'est disponible pour le fer (Fe) et ses composés (Département Cancer Environnement, n.d.).

Tableau 14: Valeurs de référence (VTR) pour des effets non cancérogènes.

Métaux	Doses de référence par voie d'ingestion (mg/kg/j)	Doses de référence par voie d'inhalation (mg/kg/j)
Cadmium	1×10^{-3}	$5,7 \times 10^{-6}$
Chrome	5 (RIVM 2001)	-
Cuivre	1×10^{-1}	$6,9 \times 10^{-4}$
Fer	-	-
Nickel	5×10^{-3} (MEF, 1996)	$8,94 \times 10^{-6}$ (MEF, 1996)
Plomb	2×10^{-2}	$5,7 \times 10^{-6}$
Zinc	$3,57 \times 10^{-3}$	1×10^{-6} (MEF, 1996)

Références :

United States Environmental Protection Agency (USEPA), 2008 sauf ministère de l'Environnement et de la Faune (MEF), 1996

Institut national de la santé publique et de l'environnement (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu – RIVM), 2001

2.2.2. Coefficients de cancérogénicité

Le coefficient de cancérogénicité (CC), qui se traduit généralement par la valeur de la pente de la courbe dose-réponse cancérogène ayant pour point de départ l'origine, permet d'estimer le risque additionnel de cancer pour une population exposée à vie aux contaminants (Institut national de santé publique du Québec et al., 2012). Le cadmium et le plomb sont considérés comme étant cancérogènes, probablement ou potentiellement cancérogènes pour les humains. Par contre, le chrome, le cuivre, le fer, le manganèse et le zinc sont des métaux pour lesquels aucun coefficient de cancérogénicité n'est disponible (Robidas, 2011).

Le tableau (15) regroupe les coefficients de cancérogénicité retenus pour le cadmium, le nickel et le plomb.

Tableau 15: Coefficients de cancérogénicité (CC) pour certains métaux lourds.

Métaux	Coefficients de cancérogénicité par voie d'ingestion 1/(mg/kg/j)	Coefficients de cancérogénicité par voie d'inhalation 1/(mg/kg/j)
Cadmium	Inexistant	6,3
Nickel	Inexistant	8,4 x10 ¹
Plomb	8,5 x10 ⁻³	4,2 x10 ²

Référence :
United States Environmental Protection Agency, 2008

2.3. Estimation de l'exposition

L'estimation de l'exposition permet de calculer les doses d'exposition potentielles des individus en présence de substances toxiques dans l'environnement (Institut national de santé publique du Québec et *al.*, 2012). Il est nécessaire, avant de procéder aux calculs relatifs à l'estimation du risque toxicologique, de définir les équations et les paramètres d'exposition pour la population cible.

2.3.1. Paramètres d'exposition

Les principales données qui seront utilisées pour définir les paramètres d'exposition des scénarios sont inspirées des lignes directrices 2012 de l'INSPQ et sont présentées ci-dessous.

Le tableau (16) résume les classes d'âge à considérer, le poids corporel et la surface corporelle totale retenus, ainsi que les valeurs d'exposition par voie respiratoire (volume d'air inhalé), par voie orale (quantités moyennes de sol, d'eau potable et d'aliments d'origine locale consommées par jour) et enfin par voie cutanée (taux d'accumulation des particules sur la peau). Ces valeurs combinées sont variables pour chaque scénario en fonction des classes d'âge (Beausoleil et *al.*, 2002).

Pour les agriculteurs travaillant à l'extérieur, une seule classe d'âge est considérée : les adultes (≥ 20 ans). De plus, le volume de particules de sol dans l'air est de l'ordre de 25 µg/m³ tel que préconisé par le Ministère de l'Environnement et de la Faune (MEF, 1996).

Tableau 16: Paramètres d'exposition de la population en fonction des différents groupes d'âge.

Classes d'âges (ans)	< 0,5	0,5 à < 5	5 à < 12	12 à < 20	≥ 20	Travailleurs (≥ 20)
Durées des classes d'âges (années)	0,5	4,5	7	8	50	50

Poids corporels (kg)	6,7	14,9	30,4	61,1	74,6	74,6
Surface corporelle totale (m²)	0,362	0,613	1,014	1,547	1,764	1,764
Volumes d'air inhalés (m³/kg p.c./j)	4,5	9,3	14,5	15,8	15,8	15,8
Quantités de sol et de poussières ingérés (mg/j)	20	150	35	20	20	100
Consommation d'eau potable (L/j)	0,521	0,728	0,985	1,232	1,528	1,528
Consommation de légumes racines¹ (kg/j)	0,083	0,105	0,161	0,227	0,188	0,188
Consommation d'autres légumes² (kg/j)	0,072	0,067	0,098	0,120	0,137	0,137
Consommation de céréales³ (kg/j)	0,040	0,168	0,265	0,282	0,222	0,222
Adhérences du sol à la peau (mg/cm²)	0	0,2	0,2	0,07	0,07	0,07

Références :

Ministère de la Santé et des Services sociaux, 2002

Compilation d'après : INSPQ, 2012, p. 24, p. 26, p. 31, p. 39, p. 40, p. 44, p. 45, p. 49 et p. 83

- 1. Comprend : carottes, oignons, rutabagas, navets, betteraves, pommes de terre (cruées, bouillies, en conserve, frites, croustilles)**
- 2. Comprend : maïs, choux (incluant la salade de chou), céleris, poivrons, laitues, choux-fleurs, brocolis, fèves vertes, pois, tomates (fraîches, en conserve, condiments à base de tomates), champignons, concombres (frais, condiments à base de concombres), légumes pour bébés, asperges, rhubarbe, courges, maïs soufflé, fèves (blanches, etc.)**
- 3. Comprend : pain (blanc, blé entier), petits gâteaux et biscuits, farine tout usage, gâteaux, brioches et beignes, craquelins, crêpes, céréales cuites (blé et avoine), céréales froides (maïs, blé et son), riz, pâtes, céréales pour bébés**

2.3.2. La fréquence d'exposition

La fréquence d'exposition (FE) ou le temps d'exposition des travailleurs opérant sur le site (scénario 1) a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$FE = 365j - (12j + 104j)/365 = 0,68$$

Ce rapport de 0,68 correspond à la déduction de 52 semaines par an, soit 104 jours de vacances pour les travailleurs, et de 12 jours de congés annuels et personnels sur les 365 jours que compte l'année.

Pour les résidents vivant à proximité du site (scénario 2), la fréquence d'exposition est considérée comme 1 selon l'équation suivante :

$$FE = 365j/365j = 1$$

En fait, un taux d'occupation de 100 % de la zone résidentielle urbaine et rurale, soit 365 jours par an dans le secteur d'étude, a été fixé pour illustrer le statut de la plus grande majorité des habitants (enfants, adultes et personnes âgées) (Beausoleil et *al.*, 2002).

2.3.3. Équations utilisés

Dans cette section, nous exposons des formules de calcul pour évaluer l'exposition journalière aux métaux lourds par inhalation, ingestion et contact cutané.

2.3.3.1. Exposition par inhalation

L'exposition par inhalation aux particules de sol se calcule comme suit :

$$D_{inh} = \frac{C_{sol} \times C_{poussières\ de\ sol\ dans\ l'air} \times INH \times FE}{P}$$

où :

- D_{inh} : dose d'exposition par inhalation (mg/kg/jour).
- C_{sol} : concentration de métaux dans le sol (mg/kg).
- $C_{poussières\ de\ sol\ dans\ l'air}$: volume de poussières de sol dans l'air (en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ d'air).
- INH : volume d'air inhalé par jour en fonction de la classe d'âge ($\text{m}^3/\text{kg}/\text{jour}$).
- FE : fréquence d'exposition (sans unité).
- P : poids corporel en fonction de la classe d'âge (kg).

2.3.3.2. Exposition par ingestion

La contamination par ingestion concerne trois milieux : le sol, l'eau potable et les aliments. Le calcul des doses d'exposition par ingestion s'effectue sur le même principe pour ces milieux, en tenant compte de la concentration des métaux dans le sol, l'eau ou les aliments, de la quantité de milieu ingéré et de la masse corporelle. Les équations d'exposition à un contaminant par voie orale se présentent ainsi comme suit (Inspiré de INSPQ, 2012, p. 52) :

$$D_s = \frac{C_s \times Q_{Is} \times FE}{P}$$

$$D_e = \frac{C_e \times Q_{Ie} \times FE}{P}$$

$$D_a = \frac{C_a \times Q_{Ia} \times FE}{P}$$

où :

- D_s : quantité de sol ingérée par jour (mg/kg).
- D_e : quantité d'eau ingérée par jour (mg/kg).

- Da : quantité d'aliments ingérée par jour (mg/kg).
- Cs : concentration du contaminant dans le sol (mg/kg).
- Ce : concentration du contaminant dans l'eau (mg/L).
- Ca : concentration du contaminant dans les aliments (mg/kg).
- QIs : quantité de sol ingérée par jour en fonction de la classe d'âges (kg/jour).
- QIe : volume d'eau potable ingérée par jour en fonction de la classe d'âges (L/jour).
- QIa : quantité d'aliments ingérée par jour en fonction de la classe d'âges (kg/jour).
- FE : fréquence d'exposition (sans unité).
- P : poids du corps en fonction de la tranche d'âge (kg).

2.3.3.3.Exposition par contact cutané

Le calcul de l'exposition par contact avec la peau est effectué selon la formule suivante (INSPQ, 2012) :

$$D_{cut} = \frac{C_{sol} \times S_{exp} \times T_{adh} \times FR_{Acut} \times FE \times EV}{P}$$

où :

- Dcut : dose d'exposition par contact cutané de sol (mg/kg/jour).
- Sexp : surface corporelle exposée en fonction de la classe d'âges (cm²).
- Tadh : taux de l'adhérence des particules de sol à la peau (mg/cm²).
- FRAcut : fraction absorbée du contaminant par la peau.
- FE : fréquence d'exposition (sans unité).
- EV : nombre d'événements de contact entre le sol et la peau par jour (événements/j).
- P : poids du corps en fonction de la tranche d'âge (kg).

Le tableau (17) présente les fractions de contaminant absorbées par la peau. En absence de valeurs disponibles pour le cuivre, le zinc et les autres métaux étudiés, une fraction par défaut de 1 % a été appliquée.

Tableau 17: Fractions de contaminant absorbées par la peau chez l'humain.

Métaux	FRAcut
Cadmium	0,001
Chrome	0,01
Cuivre	0,01
Fer	0,01
Manganèse	0,01
Nickel	0,01
Plomb	0,01
Zinc	0,01
Référence :	
Inspiré d'INSPQ, 2012, p. 49	

2.4. Estimation de risques toxicologiques

Cette dernière étape de l'évaluation des risques toxicologiques permet de définir un indice de risque pour la santé humaine en mettant les valeurs de référence et les facteurs de risque cancérigène en relation avec les doses d'exposition. Dans cette finalité, des doses de référence spécifiques aux métaux pour les deux principales voies d'exposition (inhalation et ingestion) ont été retenus. Il faut signaler que le risque d'exposition par contact cutané n'a pas été évalué par faute de données.

2.4.1. Risques toxicologiques non cancérogènes

Cette section décrit la méthode du quotient utilisée pour évaluer les risques non cancérogènes.

$$Q = \frac{D_{exp}}{D_{réf}}$$

Si $Q < 1$: il n'y a pas de risque formel.

Si $Q \geq 1$: il y a un risque formel.

où :

- Q : quotient de risque pour l'absorption de métaux par inhalation ou ingestion.
- D_{exp} : dose d'exposition estimée pour l'inhalation ou l'ingestion en fonction des classes d'âge (voir les tableaux 32 jusqu'au 41).
- $D_{réf}$: dose de référence pour les métaux (voir le tableau 14).

2.4.2. Calcul des doses d'exposition

Pour estimer les doses d'exposition des résidents et des agriculteurs, les paramètres d'exposition énumérés dans les tableaux 16 et 17, le temps d'exposition annuel calculé dans la section 2.3.2 et les formules d'exposition par inhalation de particules de sol, par ingestion de sol, des eaux souterraines (eau de puits et du canal) et de divers aliments (pommes de terre, légumineuses et blé) et par contact cutané avec le sol ont été employés. Il convient de préciser que le nombre de contacts peau-sol a été fixé à un événement par jour.

Les niveaux d'exposition et de risque dans la population cible ont été déterminés aussi bien pour les métaux supérieurs au seuil que pour ceux inférieurs aux limites, considérant que toute exposition, même la plus faible, entraîne un excès de risque, comme le rappelle l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2005). En effet, le risque d'exposition à ces substances, qui n'ont pas de seuil d'effet, a été définie comme acceptable (généralement situé entre 10^{-4} et 10^{-6}) (Joyeux and Aguilar, 2005).

2.4.3. Risques toxicologiques cancérogènes

Un risque additionnel de cancer (Radd) représente l'excès de cancer causé par une exposition consécutive à des substances cancérigènes pendant les 70 premières années de la

vie, durant lesquelles des tumeurs sont susceptibles de se développer (INSPQ, 2012). La formule générale pour définir ce risque est donnée par l'équation suivante (MSSS, 2002) :

$$R_{add} = \frac{D_{moy}}{CC}$$

où :

- R_{add} : risque additionnel de cancer.
- D_{moy} : dose moyenne d'exposition aux métaux pour les classes d'âge considérées via l'ingestion ou l'inhalation (voir les tableaux 46 jusqu'au 49).
- CC : coefficients de cancérogénicité pour l'ingestion ou l'inhalation de métaux (voir le tableau 15).

Pour chaque métal concerné, la dose moyenne d'exposition à vie (soit 70 ans) équivaut à la somme des doses d'exposition par classe d'âge multipliée par l'intervalle de classe d'âge approprié (voir le tableau 16). Selon les directives de l'INSPQ de 2012, la durée de vie en milieu de travail a été fixée à 45 ans (20 ans à 65 ans) pour le scénario 1. Toutefois, pour le calcul des doses moyennes d'exposition (D_{moy}), la durée de la classe d'âge à laquelle appartiennent ces individus, à savoir 50 ans, a été prise en compte. Les D_{moy} ont été obtenus selon la formule mentionnée ci-dessous et sont présentés dans les tableaux ci-après.

$$D_{moy} = \frac{\varepsilon (D_{exp} \times Durées \text{ âge})}{\varepsilon Durées \text{ âge}}$$

où :

- D_{moy} : dose moyenne d'exposition sur une période de 0 à 70 ans.
- D_{exp} : dose d'exposition aux métaux par classe d'âge.
- $Durées \text{ âge}$: durée de la tranche d'âge (en années) (voir le tableau 16).

3. Évaluation du risque écotoxicologique

Dans cette section, la méthode adoptée pour évaluer le risque écotoxicologique est issue de la Procédure d'évaluation du risque écotoxicologique pour la réhabilitation des terrains contaminés définie par le CEAEQ (1998).

3.1. Récepteurs biologiques retenus

Pour l'évaluation des risques écotoxicologiques, il est recommandé d'utiliser plusieurs récepteurs, dont les micro-organismes du sol, les espèces végétales et animales terrestres telles que les invertébrés, les oiseaux et les mammifères terrestres (CEAEQ, 1998). La sélection de ces organismes est basée sur les critères suivants : au moins une voie d'exposition identifiée et utilisable, leur existence en abondance dans les limites géographiques du site d'étude et la disponibilité de données sur leurs caractéristiques biologiques (Robert-Nadeau and Van Coillie, 2012).

À cet égard, le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* collecté en 2021, ainsi que les plantes usuelles prélevées sur le site d'étude en 2019 et 2021, ont été retenus. Pour rappel, il s'agit des légumes racinaires (pommes de terre) ; des légumineuses, notamment le pois chiche et les lentilles ; et des céréales, y compris le blé dur (*Triticum durum* Desf.) et le blé tendre (*Triticum aestivum*).

3.2. Schéma conceptuel d'exposition

Le modèle conceptuel de contamination ci-dessous, synthétise les données essentielles concernant les sources de contaminants, le devenir et les voies de transport de ces substances toxiques, les récepteurs pertinents et leurs voies d'exposition.

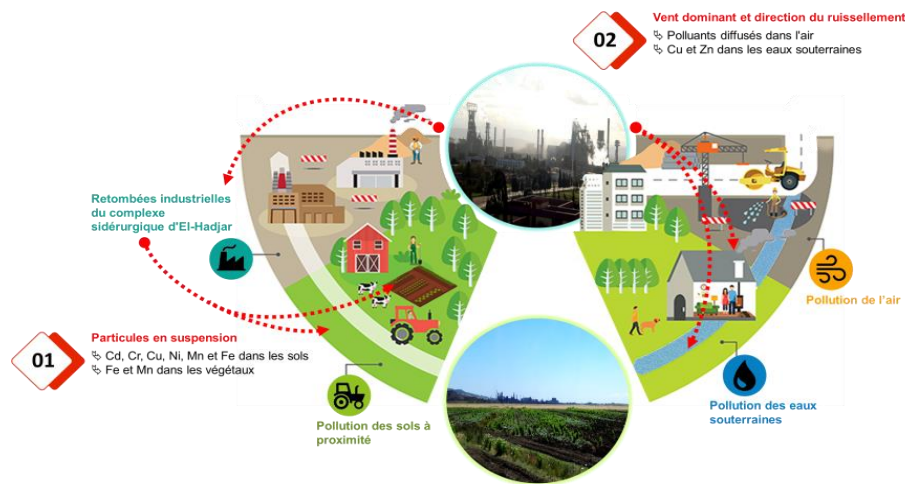


Figure 16: Schéma conceptuel de contamination des sols par les métaux lourds dans la région d'El-Karma, Annaba (Benhalima H., 2021).

3.3. Valeurs écotoxicologiques de référence pour les récepteurs sélectionnés

Le tableau (18) présente les valeurs de référence pour les plantes et les vers de terre.

Tableau 18: Valeurs de référence de métaux pour des plantes et les vers de terre.

Métaux	Valeurs de référence de métaux pour les plantes (mg/kg/j)	Valeurs de référence de métaux pour les vers de terre (mg/kg/j)
Cadmium	0,33	34,42
Chrome	0,36	12,46
Cuivre	11,63	95,63
Fer	-	-
Manganèse	-	-
Nickel	2,84	142,91
Plomb	16,67	1165,42
Zinc	15,36	233,02

Référence :
Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2007

3.4. Estimation des expositions pour les plantes et les invertébrés terrestres

En général, les plantes et les invertébrés du sol sont exposés aux métaux potentiellement toxiques par contact direct (CEAEQ, 1998). Bien que cette voie d'exposition soit pertinente pour les vers de terre puisqu'ils ingèrent une quantité importante de sol, la plupart des études écotoxicologiques tiennent compte principalement des teneurs en métaux dans les sols étudiés, sans considérer une voie d'exposition spécifique (Robert-Nadeau and Van Coillie, 2012). Pour cette raison, les expositions estimées pour ces deux récepteurs sont cohérentes avec les concentrations des métaux étudiés présents dans les sols du site.

3.5. Calcul des risques écotoxicologiques formels

La méthode du quotient a été utilisée pour évaluer le risque écotoxicologique formel en comparant deux paramètres toxicologiques : la valeur d'exposition estimée à une substance et la valeur de référence écotoxicologique pour un récepteur donné (CEAEQ, 2012). L'équation du quotient (CEAEQ, 1998), se présente comme suit :

$$RE = \frac{EE}{VR_{\text{récepteur}}}$$

Si $RE < 1$: Il n'y a pas de risque formel.

Si $RE \geq 1$: Il y a un risque formel.

où

- RE : risque estimé.
- EE : exposition estimée pour la voie d'exposition i (mg/kg/jour).
- VR_{récepteur} : valeur écotoxicologique de référence pour la voie d'exposition (mg/kg/jour).



Chapitre 3 : Résultats



Partie 1 : Caractérisation du sol et analyse des métaux lourds dans divers échantillons environnementaux

1. Analyse physico-chimique du sol

Les caractéristiques physico-chimiques des 4 sols agricoles de la région d'El-Karma sont présentées dans le tableau (19).

Tableau 19: Paramètres physico-chimiques des sols.

Paramètres	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Normes
pH	8,33	8,31	7,85	8,29	7-7,4 NF X31-103
C total	3,11	2,96	Trs	Trs	NF X31-109
MO (%)	1,6520	1,6520	3,8640	2,4780	2-4 % NF ISO 10694
CE (mS/m)	0,21	0,20	1,81	0,34	NF ISO 11265
Patte saturée	//	//	11,59	//	NF X31-107
Sable (%)	36	48	44	40	NF X31-107
Limon (%)	24	32	44	32	NF X31-107
Argile (%)	40	20	12	28	NF X31-107
N (%)	0,118	0,118	0,276	0,177	0,9 mg/kg NF ISO11261
K (meq/100g)	1,00	0,91	2,50	1,71	0,4 meq/g NF ISO 11260
Na (meq/100g)	0,66	0,78	4,14	0,80	NF ISO 11263
Mg (meq/100g)	3,50	3,72	4,99	3,10	25 meq/g NF ISO 7980
Ca (meq/100g)	36,06	36,51	31,20	32,50	3 ppm NF ISO 23470
P (ppm)	17,20	14,00	163,60	31,00	0,5 mg/kg NF ISO 14672

C = Carbone total ; MO = Matière organique ; CE = Conductivité électrique ; N = Azote ; K = Potassium ; Na = Sodium ; Mg = Magnésium ; Ca = Calcium ; P = Phosphore

En analysant les résultats rapportés dans le tableau ci-avant, on constate que le pH des quatre sols est plus alcalin dans la zone d'El-Hadjar. La valeur de pH dans les sols S1, S2 et S4 est significativement plus basique (respectivement pH = 8,33 ; 8,31 et 8,29) que celle du sol S3 (pH = 7,85).

La teneur en carbone est variable d'un site d'échantillonnage à un autre. D'après la comparaison inter-sols, on observe clairement que la valeur moyenne en C dans la parcelle 1 est supérieure à celle de la parcelle 2. Tandis que les sites 3 et 4 sont dépourvus de carbone.

La matière organique (MO), tout en restant faible, est plus importante avec une moyenne qui varie entre 2 % pour les sols S1 et S2 ; 4 % pour le sol S3 et 2,4 % pour le sol S4.

La conductivité électrique est également une propriété importante de la matrice des sols. Les teneurs moyennes en conductivité électrique sont plus élevées dans le sol S3 que dans les trois autres sols. La teneur en EC (mS/m) est classée dans l'ordre décroissant suivant : [EC] sol 3 > [EC] sol 4 > [EC] sol 1 > [EC] sol 2.

Les résultats de la granulométrie montrent que le sol S1 est décrit comme étant argileux sableux, le sol S2 est sableux limoneux, le sol S3 est limoneux sableux et le sol S4 est sableux limoneux. Pour les quatre sols S1, S2, S3 et S4, les pourcentages de sables fins (50 à 200 µm) sont respectivement 36 %, 48 %, 44 % et 40 %. Les particules de limons grossiers de diamètre entre 20 µm et 50 µm représentent respectivement 32 %, 44 % et 32 % pour les sols S2, S3 et S4. Les limons fins variant entre 2 µm et 20 µm avec respectivement un pourcentage de 24 % pour le sol S1. Enfin les argiles de diamètre ≤ 2 µm constituent respectivement 40 %, 20 %, 12 % et 28 %.

La teneur en azote total des sols est significativement plus élevée que la norme, 1180 mg/kg pour les sols 1 et 2 ; 2760 mg/kg pour le sol 3 et 1770 mg/kg pour le sol 4. L'azote est beaucoup plus abondant dans le sol S3. Le taux d'azote est équivalent pour les sols S1 et S2.

Les résultats montrent que le potassium est très concentré dans les sols avec des valeurs de 1 meq/100g pour le sol S1 ; 0,91 meq/100g pour le sol S2 ; 2,50 meq/100g pour le sol S3 et 1,71 meq/100g pour le sol S4. Ces valeurs dépassent celle de la norme NF ISO 11260 (0,4 meq/g).

Par contre, le sodium et le magnésium sont faiblement présents dans les sols avec des masses relativement inférieures aux normes. Dans le cas du calcium, les résultats indiquent que le taux d'ions Ca est majoritaire dans les sols agricoles d'El-Karma avec un pourcentage maximal de 36,06 % et 36,51 % pour les sols S1 et S2, respectivement.

La teneur en phosphore total dans les différentes parcelles (entre 14 et 163,6 ppm) est supérieure aux limites (0,5 ppm). Un pourcentage massique maximal de P a été relevé dans la parcelle S3.

Le test de Kruskal-Wallis, qui a été utilisé comme alternative à l'ANOVA dès que la condition de normalité n'est pas acceptable, a montré que l'hypothèse nulle (H_0) est acceptée et que la différence statistique n'est pas significative avec $p > 0,05$. Par conséquent, la composition physico-chimique des différents échantillons de sol est parfaitement homogène dans la zone d'étude.

2. Analyse fongique du sol

Au total, quatre espèces fongiques ont été identifiées. Le tableau 20, ci-dessous, représente l'aspect morphologique des mycotaxons étudiés.

Tableau 20: Les champignons identifiés des sols étudiés.

Souche	Forme macroscopique	Forme microscopique
--------	---------------------	---------------------

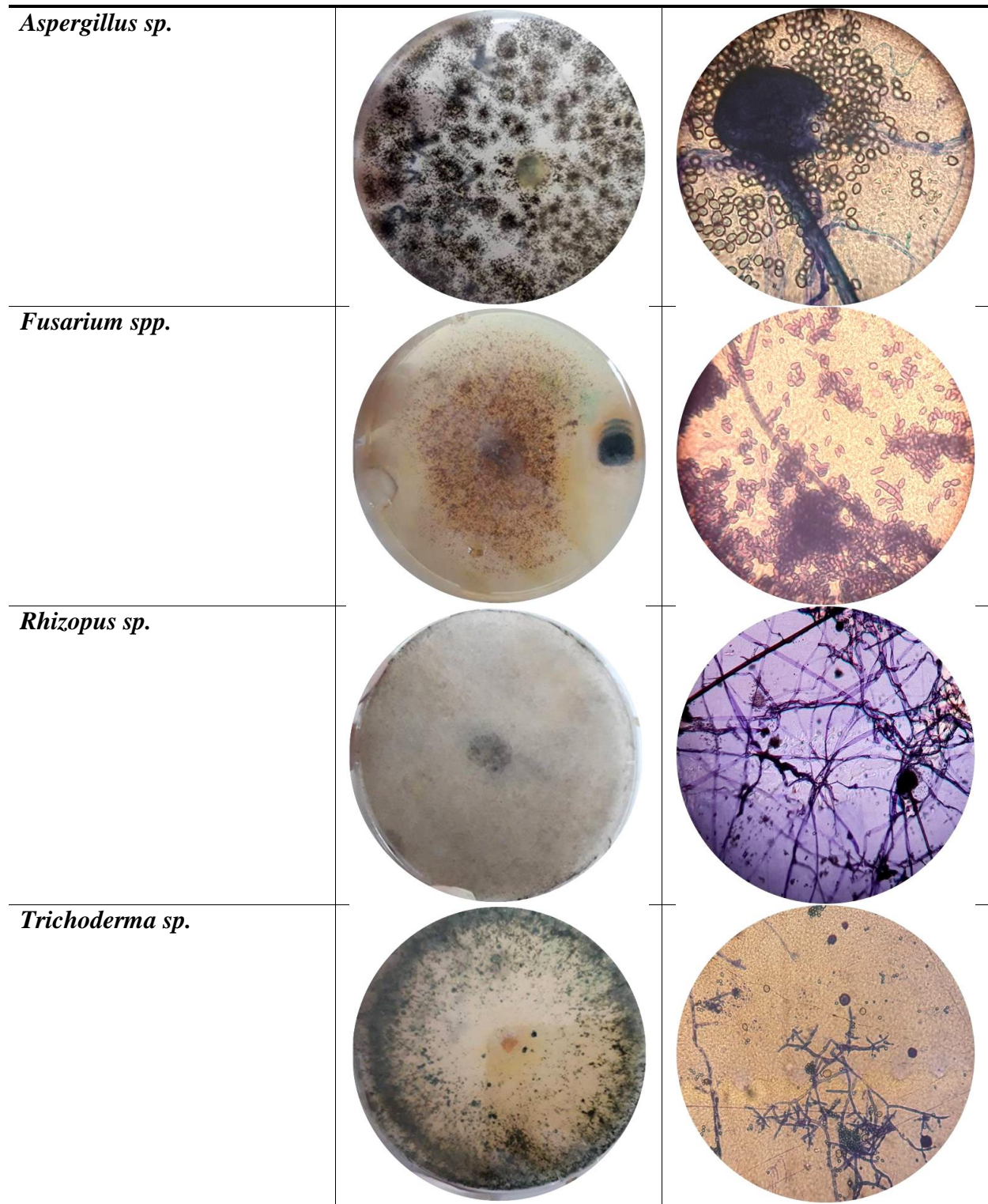


Tableau 21: Composition générale de la microflore de chaque sol (station El-Karma).

Sols	Champignons étudiés
S1	<i>Trichoderma sp.</i>
S2	<i>Trichoderma sp.</i>
	<i>Fusarium spp.</i>
	<i>Rhizopus sp.</i>

S3	<i>Fusarium spp.</i>
	<i>Rhizopus sp.</i>
	<i>Aspergillus sp.</i>
S4	<i>Trichoderma sp.</i>
	<i>Fusarium spp.</i>
	<i>Rhizopus sp.</i>
	<i>Aspergillus sp.</i>

Les résultats de cette étude ont démontré que le site d'El-Karma est une véritable réserve de champignons. Quatre familles de champignons ont été isolées et identifiées à partir de sols prélevés dans cette zone (*Aspergillus sp.*, *Fusarium spp.*, *Rhizopus sp.*, *Trichoderma sp.*).

Le nombre de taxons et le genre des espèces dominantes par sol étaient très variables. En comparant les quatre sols de la région, la diversité fongique était plus importante dans le sol S4 que dans le reste des sols.

Effectivement, une seule espèce abandonnée (*Trichoderma sp.*) a été identifiée dans le sol S1, trois champignons dans le sol S2 (*Trichoderma sp.*, *Fusarium spp.*, *Rhizopus sp.*) et dans le sol S3 (*Fusarium spp.*, *Rhizopus sp.*, *Aspergillus sp.*).

3. Analyse des métaux lourds

3.1. Concentrations calculées des contaminants

Les résultats des teneurs en métaux lourds dans les sols, les eaux souterraines et la végétation sont consignés dans les trois sections qui suivent.

3.1.1. Concentrations des métaux lourds dans les sols

Le tableau (22) présente les teneurs en métaux dans les sols des 4 parcelles de la région d'El-Karma au cours des différentes périodes de prélèvement.

Tableau 22: Concentrations des métaux lourds dans les sols (en mg métal/kg de sol) en fonction des différentes périodes de prélèvement de l'année 2019 et 2021.

Métaux	L'année 2019				L'année 2021			
	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
Cd	12	7	7	9	10	4	3	8
Cr	171	109	107	102	112	106	100	98
Cu	38	32	30	28	19	12	11	10
Fe	30832	22492	20722	19982	6113	5295	5981	9620
Mn	1110	791	660	738	1021	525	328	450
Ni	46	35	32	31	16	10	9	8
Pb	20	12	15	16	20	16	17	25
Zn	67	53	46	48	83	60	36	50

3.1.2. Concentrations des métaux lourds dans les eaux souterraines

Le tableau (23) expose les concentrations en métaux lourds dans les eaux souterraines de la région d'étude.

Tableau 23: Concentrations des métaux lourds dans les eaux souterraines (en µg/L) en fonction des différentes périodes de prélèvement.

Métaux	L'année 2019		L'année 2021	
	Eau de puits	Eau du canal	Eau de puits	Eau du canal
Cd	- 0,39 <1	- 5,12 <1	- 0,56 <1	- 8,27 <1
Cr	11	4	12	4
Cu	16	18	18	20
Fe	81	35	56	42
Mn	8	9	9	11
Ni	10	2	8	1
Pb	- 31,11 <1	- 88,37 <1	- 25,30 <1	- 76,85 <1
Zn	2352	3049	2298	2847

3.1.3. Concentrations de métaux lourds bioaccumulés dans les cultures végétales

Le tableau (24) donne les concentrations des métaux lourds accumulées par les plantes prélevées du site d'étude. La zone d'étude est divisée en quatre parcelles distinctes selon le type de culture : pour les prélèvements effectués en 2019, la première (S1) était dominée par le blé dur (*Triticum durum* Desf.) ; la deuxième (S2) était couverte de pommes de terre ; les troisième et quatrième parcelles (S3 et S4) étaient caractérisées par des légumineuses de petite taille, respectivement le pois chiche et les lentilles. Quant aux cultures usuelles en rotation lors de l'échantillonnage en 2021, il s'agissait du blé dur cultivé dans les champs S1 et S2 ; et du blé tendre pour les champs S3 et S4.

Tableau 24: Concentrations des métaux lourds dans les plantes (en mg/kg) en fonction des différentes périodes de prélèvement.

Métaux	L'année 2019				L'année 2021			
	Blé dur du S1	Pomme de terre du S2	Pois chiche du S3	Lentilles du S4	Blé dur du S1	Blé dur du S2	Blé tendre du S3	Blé tendre du S4
Cd	- 1,04	- 0,68	- 1,96	- 2,09	- 0,64	- 0,52	- 1,48	- 1,60
Cr	- 2,94	- 8,50	- 11,68	- 13,75	- 2,40	- 7,72	- 11,47	- 12,42
Cu	12	1	1,62	0,69	9	2	0,48	- 0,49
Fe	776	150	454	28	577	132	425	32
Mn	194	12	179	8	192	16	173	7
Ni	- 3,83	- 8,90	- 13,50	- 14,38	- 0,32	- 7,38	- 9,59	- 11,81
Pb	- 2,53	- 2,94	- 7,96	- 10,20	- 0,24	- 1,12	- 0,58	- 7,44
Zn	- 753	- 812	- 2304	- 2226	- 734	- 777	- 2 141	- 2 038

3.1.4. Concentrations de métaux lourds bioaccumulés dans les vers de terre

Le tableau (25) montre les teneurs en cadmium, chrome, cuivre, fer, manganèse, nickel, plomb et zinc dans les vers de terre collectés dans quatre sols agricoles près de l'industrie d'El-Hadjar en 2021.

Tableau 25: Concentrations des métaux lourds dans les vers de terre (en mg/kg) en 2021.

Métaux	L'année 2021			
	Vers de terre prélevés du S1	Vers de terre prélevés du S2	Vers de terre prélevés du S3	Vers de terre prélevés du S4
Cd	0,8	1,5	0,3	- 0,29
Cr	4	2	5	3
Cu	6	7	6	0,8
Fe	1 921	1 242	1 861	1 001
Mn	243	238	233	200
Ni	2	0,3	0,06	- 1,553
Pb	13	6	5	3
Zn	- 543	- 746	- 1 113	- 1 514

3.2. Analyse comparative des concentrations calculées et les normes de qualité

Les tableaux ci-après comparent les concentrations obtenues par rapport aux normes et critères de qualité des sols, des eaux souterraines et des plantes. Les cellules colorées indiquent les dépassements de ces valeurs.

3.2.1. Comparaison entre les concentrations obtenues et les critères de qualité pour les sols

Tableau 26: Concentrations obtenues par rapport aux critères de qualité A pour les sols naturels (en mg métal/kg de sol).

Métaux	Critères de qualité A pour le sol agricole (voir le tableau 4 et 5)	Sols (voir le tableau 22)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
Cd	0,8	12	7	7	9	10	4	3	8
Cr	100	171	109	107	102	112	106	100	98
Cu	36	38	32	30	28	19	12	11	10
Fe	100	30832	22492	20722	19982	6113	5295	5981	9620
Mn	1000	1110	791	660	738	1021	525	328	450
Ni	35	46	35	32	31	16	10	9	8

Pb	85	20	12	15	16	20	16	17	25
Zn	140	67	53	46	48	83	60	36	50

3.2.2. Comparaison entre les concentrations obtenues et les critères de qualité pour les eaux souterraines

Les tableaux 27, 28 et 29 évaluent les teneurs des métaux lourds obtenues par comparaison avec les critères de qualité des eaux souterraines.

Tableau 27: Concentrations obtenues par rapport aux normes de qualité pour l'eau d'irrigation (en µg/L).

Métaux	Critères de qualité pour l'eau d'irrigation (voir le tableau 6)	Eaux souterraines (voir le tableau 23)			
		L'année 2019		L'année 2021	
		Eau de puits	Eau du canal	Eau de puits	Eau du canal
Cd	10	- 0,39 <1	- 5,12 <1	- 0,56 <1	- 8,27 <1
Cr	550	11	4	12	4
Cu	17	16	18	18	20
Fe	500	81	35	56	42
Mn	200	8	9	9	11
Ni	1400	10	2	8	1
Pb	65	- 31,11 <1	- 88,37 <1	- 25,30 <1	- 76,85 <1
Zn	200	2352	3049	2298	2847

Tableau 28: Concentrations obtenues par rapport aux normes de qualité pour l'eau de consommation (en µg/L).

Métaux	Critères de qualité pour l'eau de consommation (voir le tableau 6)	Eaux souterraines (voir le tableau 23)			
		L'année 2019		L'année 2021	
		Eau de puits	Eau du canal	Eau de puits	Eau du canal
Cd	5	- 0,39 <1	- 5,12 <1	- 0,56 <1	- 8,27 <1
Cr	50	11	4	12	4
Cu	1000	16	18	18	20
Fe	200	81	35	56	42
Mn	50	8	9	9	11
Ni	20	10	2	8	1
Pb	10	- 31,11 <1	- 88,37 <1	- 25,30 <1	- 76,85 <1
Zn	5000	2352	3049	2298	2847

Tableau 29: Concentrations obtenues par rapport aux normes de qualité pour les eaux souterraines (en µg/L).

Métaux	Critères de qualité pour l'eau souterraine (voir tableau 6)	Eaux souterraines (voir le tableau 23)			
		L'année 2019		L'année 2021	
		Eau de puits	Eau du canal	Eau de puits	Eau du canal
Cd	2,1	- 0,39 <1	- 5,12 <1	- 0,56 <1	- 8,27 <1
Cr	-	11	4	12	4
Cu	7,3	16	18	18	20
Fe	-	81	35	56	42
Mn	-	8	9	9	11
Ni	790	10	2	8	1
Pb	34	- 31,11 <1	- 88,37 <1	- 25,30 <1	- 76,85 <1
Zn	65	2352	3049	2298	2847

3.2.3. Comparaison entre les concentrations obtenues et les critères de qualité pour les végétaux

Le tableau 30 illustre les teneurs en métaux lourds dans les cultures végétales par comparaison avec les normes mondiales.

Tableau 30: Concentrations obtenues par rapport aux normes mondiales pour les plantes (en mg métal/kg de sol).

Métaux	Normes mondiales (voir tableau 7)	Plantes (voir le tableau 24)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Blé dur du S1	Pomme de terre du S2	Pois chiche du S3	Lentilles du S4	Blé dur du S1	Blé dur du S2	Blé tendre du S3	Blé tendre du S4
Cd	< 0,1-1	- 1,04	- 0,68	- 1,96	- 2,09	- 0,64	- 0,52	- 1,48	- 1,60
Cr	0,01-1	- 2,94	- 8,50	- 11,68	- 13,75	- 2,40	- 7,72	- 11,47	- 12,42
Cu	3-15	12	1	1,62	0,69	9	2	0,48	- 0,49
Fe	450*	776	150	454	28	577	132	425	32
Mn	-	194	12	179	8	192	16	173	7
Ni	0,1-5	- 3,83	- 8,90	- 13,50	- 14,38	- 0,32	- 7,38	- 9,59	- 11,81
Pb	1-5	- 2,53	- 2,94	- 7,96	- 10,20	- 0,24	- 1,12	- 0,58	- 7,44
Zn	15-150	- 753	- 812	- 2304	- 2226	- 734	- 777	- 2 141	- 2 038

D'après ces tableaux, on peut observer que l'évolution en cadmium dans les sols S1, S2, S3 et S4 est variable pendant la période de notre investigation. En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, on remarque que les valeurs moyennes du Cd dans ces sols dépassent les normes (0,8 mg/kg). Les quatre sols sont donc contaminés en Cd pendant les deux périodes de nos prélèvements.

Le deuxième élément en quantité significative est le chrome (Cr), il varie : entre 171, 109, 107 et 102, respectivement pour les sols S1, S2, S3 et S4 prélevés durant l'année 2019. Ces teneurs sont supérieures aux valeurs limites indiquées dans le tableau (100 mg/kg). En comparant les données interannuelles, les échantillons de sols S1, S2 et S3 en 2021 sont pollués par le chrome, à l'exception du sol S4.

Quant au cuivre, la comparaison de nos valeurs avec celles de référence (36 mg/kg) pour les sols agricoles nous permet de déterminer que nos sols ne sont pas contaminés par le Cu sauf pour le sol S1 échantillonné au cours de l'année 2019, où les teneurs sont totalement supérieures (38 mg/kg). Ainsi, le sol S1 est contaminé par le Cu.

L'évolution en Fe dans les quatre échantillons est fortement croissante par rapport aux différentes périodes de prélèvement. En effet, l'ion du fer se trouve en quantité prédominante dans les quatre sols étudiés avec un pourcentage massique de 30832, 22492, 20722, 19982, 6113, 5295, 5981 et 9620 mg/kg respectivement pour les S1, S2, S3 et S4 des années 2019 et 2021.

Les teneurs en manganèse (Mn) sont supérieures aux critères de qualité dans le sol S1 en 2019 et 2021. Cependant, on constate une diminution de la concentration en Mn dans les autres sols en fonction du 1^{er} et du 2^{ème} prélèvement.

Les teneurs en nickel dans les sols S1 et S2 en 2019 (46 et 35 mg/kg, respectivement) sont supérieures au seuil de toxicité des sols agricoles. En revanche, aucun signe de contamination par le Ni n'a été observé dans les autres sols comparé aux deux périodes d'échantillonnage.

Les niveaux moyens en Pb et Zn sont inférieurs à celles des normes définies dans le tableau, par conséquent les sols de la région ne sont pas contaminés par le plomb ou le zinc à travers le temps.

Sur le plan statistique, les résultats du test de Kruskal-Wallis montrent que les variations des teneurs en métaux lourds dans les quatre sols ne sont pas significatives. En effet, il existe une diminution de la répartition des métaux lourds dans les différents sols prélevés en 2021 par rapport à ceux prélevés en 2019.

Pour le sol S1, les concentrations en Cd, Cr, Fe et Mn sont élevées dans les deux périodes, par contre les teneurs en Cu et Ni sont plus importantes en 2019. Quant au sol S2, les plus fortes teneurs en Cd, Cr, Fe sont enregistrées en 2019 ainsi qu'en 2021. Cependant, les niveaux de Ni ont atteint le seuil le plus élevé uniquement en 2019.

Comme pour le sol S3 et S4, les teneurs en Cd, Cr et Fe sont plus fortes selon les différentes périodes d'échantillonnage avec une carence en Cr dans le sol S4 en 2021 par rapport à 2019.

En général, les métaux présents dans les sols sont fortement corrélés, avec des coefficients de corrélation très élevés.

Le dosage des métaux lourds dans les eaux souterraines en 2019 et 2021 a révélé la présence de deux métaux, le cuivre et le zinc, dont les teneurs dépassent les normes pour les eaux souterraines. Toutefois, concernant les normes pour l'eau d'irrigation, on trouve que le Cu est l'élément le plus biodisponible dans l'eau du canal analysée en 2019 et dans les eaux de puits et de canal en 2021, suivi du Zn pour les deux eaux souterraines testées au cours des deux années. Par rapport aux normes de l'eau potable, nos échantillons ne présentent aucun danger à la consommation au cours des années concernées.

Les concentrations en métaux lourds dans les eaux souterraines en 2021 restent supérieures à celles des eaux analysées en 2019. Cependant, le taux de Fe dans les eaux de puits a diminué de manière non significative en 2021 à 56 µg/L contre 81 µg/L en 2019. Il convient de noter que l'eau du canal est moins contaminée par le Cr, le Fe et le Ni en 2019 que l'eau de puits.

Conformément aux normes, les teneurs en métaux lourds trouvées dans la végétation montrent que chez le blé dur et le pois chiche prélevés respectivement des parcelles S1 et S3 en 2019 et le blé dur provenant du sol S1 en 2021, seul le fer est détecté chez le blé dur et le pois chiche. En revanche, on a noté une diminution de la teneur en Fe chez le blé tendre prélevé sur le site S3 lors du second prélèvement par rapport au premier.

L'accumulation des métaux lourds dans les plantes examinées varie de façon non significative d'une espèce à l'autre en fonction du temps. Il semble que le blé dur, suivi du pois chiche présentent des taux notables de rétention en métaux lourds. Ainsi, des carences en cadmium, chrome, nickel, plomb et zinc ont été observées pour toutes les cultures au fil du temps.

Les concentrations de métaux lourds bioaccumulés dans les vers de terre montrent qu'il y avait des variations marquées entre les concentrations de métaux lourds (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, et Zn) chez les vers de terre in situ, et ce pour chaque site de l'année 2021. Les individus recueillis du sol S1 présentaient la plus forte concentration en Fe, Mn, Ni, et Pb. Pour le zinc, les valeurs étaient inférieures à 1 pour tous les échantillons. Ces résultats ont permis de constater que les concentrations de tous les éléments métalliques dans les sols en 2021 sont plus élevées que celles observées chez les vers de terre échantillonnés au cours de la même période. La concentration de métaux dans les échantillons de vers de terre collectés n'a pas présenté de différence significative avec le test de Kruskal-Wallis.

Partie 2 : Evaluation de la toxicité des métaux lourds chez des modèles biologiques

1. Etude in situ

1.1. Cas du blé dur

1.1.1. Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux de protéines totales

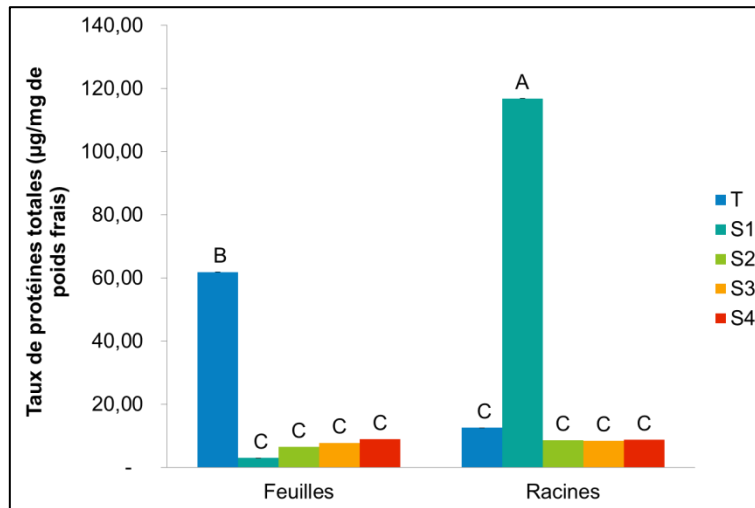


Figure 17: Effets des mixtures métalliques sur le contenu des protéines totales dans les feuilles et les racines du blé in situ.

La figure (17) illustre les effets des mixtures métalliques sur le contenu des protéines totales dans les feuilles et les racines du blé tendre (*Triticum aestivum*) et du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Selon nos résultats, la teneur en protéines totales diminue de manière significative ($p \leq 0,001$) chez les échantillons de blé prélevés dans les sols (S1, S2, S3 et S4) pollués par différentes concentrations de métaux lourds, par rapport au groupe témoin. La plus faible (2,90 µg/mg) quantité en protéines totales a été mesurée chez les feuilles du blé dur collecté du site S1 et la plus forte (116,79 µg/mg) chez les racines du blé provenant du même site (S1).

1.1.2. Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux du GSH

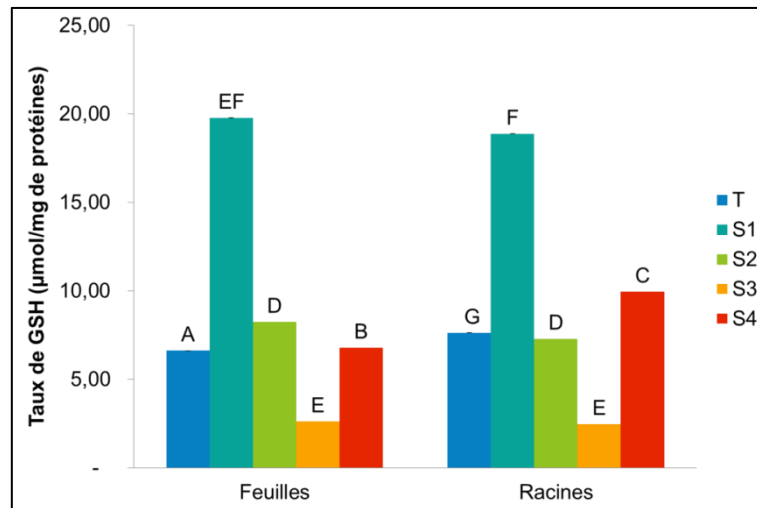


Figure 18: Effets des mixtures de métaux lourds sur les concentrations de GSH chez le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum* Desf.) in situ.

Les quantités de glutathion réduit (GSH) dans les tissus végétaux sont regroupées dans la figure (18). Le test révèle une augmentation et une diminution très hautement significative ($p = 0,000$) du taux de GSH en fonction des différentes concentrations métalliques appliquées chez les feuilles et racines du blé. Le plus fort taux de GSH est enregistré pour S1 chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.), où les valeurs sont respectivement $19,76 \mu\text{mol/mg}$ de protéines chez les feuilles et $18,86 \mu\text{mol/mg}$ de protéines chez les racines. Toutefois, seule la mixture métallique dans le site S3 entraîne une diminution significative de ce taux chez les feuilles ($2,60 \mu\text{mol/mg}$ de protéines) et les racines ($2,46 \mu\text{mol/mg}$ de protéines) du blé tendre (*Triticum aestivum*), comparé au contrôle.

1.1.3. Effets des mixtures de métaux lourds sur le contenu en SH_T

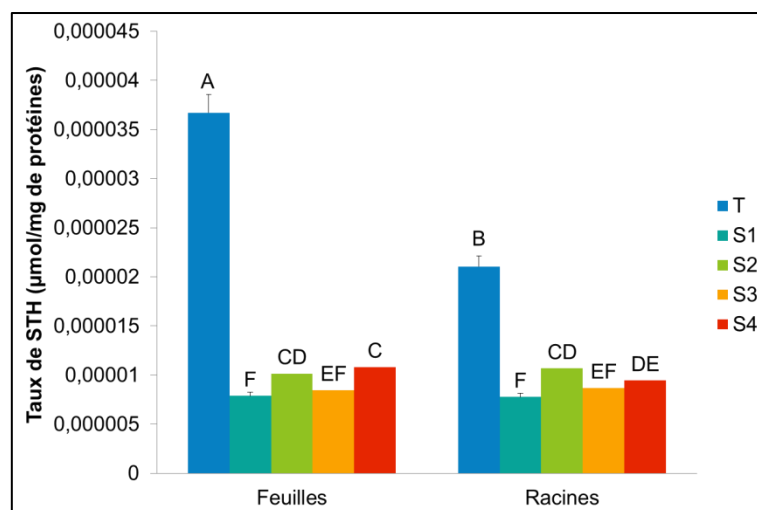


Figure 19: Evolution de la teneur en thiols non protéiques acido-solubles chez le blé exposé à des mixtures métalliques in situ.

La figure (19) affiche l'évolution de la teneur en thiols non protéiques acido-solubles chez le blé in situ. En comparaison au témoin, la teneur en SH_T du blé a diminué de manière hautement significative (P = 0,000) et de la même intensité dans les feuilles et les racines en fonction des sols. Un déclin plus important est observé chez le blé cultivé dans le sol S1.

1.1.4. Effets des mixtures de métaux lourds sur la teneur en PCs

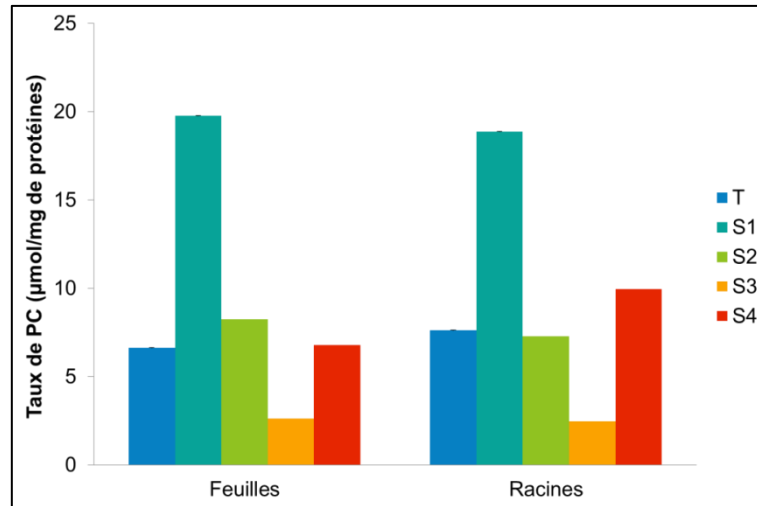


Figure 20: Variation du contenu en phytochélatines chez les plantes du blé sous stress métallique in situ.

Les effets des métaux lourds in situ sur le contenu en phytochélatines chez le blé sont rapportés dans la figure (20). Il a été révélé que la quantité de PCs a significativement augmenté chez le blé dur et le blé tendre in situ, par rapport aux contrôles. Le niveau de PCs est plus supérieur dans les deux variétés échantillonnées du sol S1 à celui des plantes témoins. Par contre, la plus forte baisse est notée chez le blé tendre prélevé de la parcelle S3.

1.1.5. Effets des mixtures métalliques sur l'activité CAT

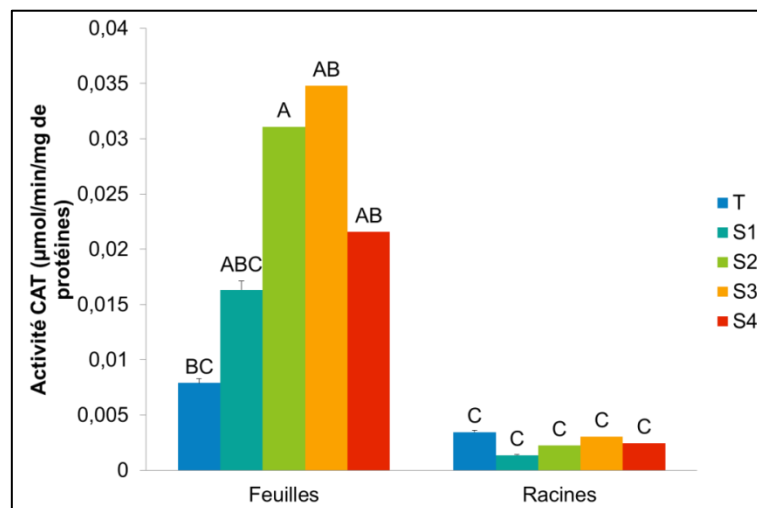


Figure 21: Effets des métaux sur l'évolution de l'activité enzymatique de la catalase chez le blé in situ.

La figure (21) présente l'évolution de l'activité CAT chez le blé en fonction des différentes concentrations en métaux lourds dans les sols (S1, S2, S3, S4). Les données obtenues indiquent une induction hautement significative ($p \leq 0,001$) de l'activité CAT chez le blé tendre collecté du site contaminé S3 comparé aux autres sites. Alors que, les autres sites présentent une activité moindre par rapport au S3. L'effet minimal a été observé pour le site S1 où les valeurs sont respectivement $0,004 \mu\text{g}/\text{mg}$ de protéines totales chez les feuilles, et $0,003 \mu\text{g}/\text{mg}$ chez les racines du blé dur.

1.1.6. Effets des mixtures métalliques sur l'activité LOX

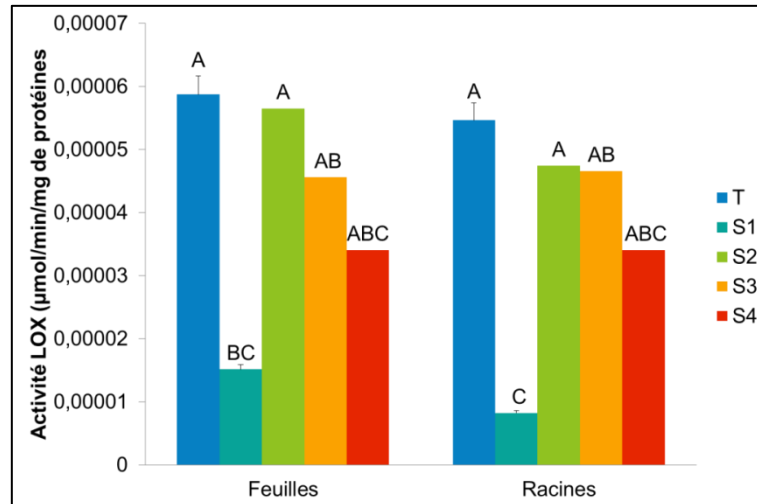


Figure 22: Modifications de l'activité LOX dans les feuilles et les racines de blé in situ.

L'évolution de l'activité lipoxygénase chez le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum* Desf.) exposés aux métaux lourds in situ est décrite dans le diagramme ci-avant (Figure 22). Par comparaison aux valeurs témoins, les concentrations de métaux lourds dans les sols S1, S2, S3 et S4 ont induit une réduction de l'activité LOX dans les racines et les feuilles du blé. Une diminution significative ($P \leq 0,001$) de cette activité a été observée à la plus forte concentration de métal dans le sol S1. L'activité LOX ne différait pas significativement entre les racines et les feuilles de blé.

1.2. Cas du ver de terre

1.2.1. Effets sur le contenu en protéines totales

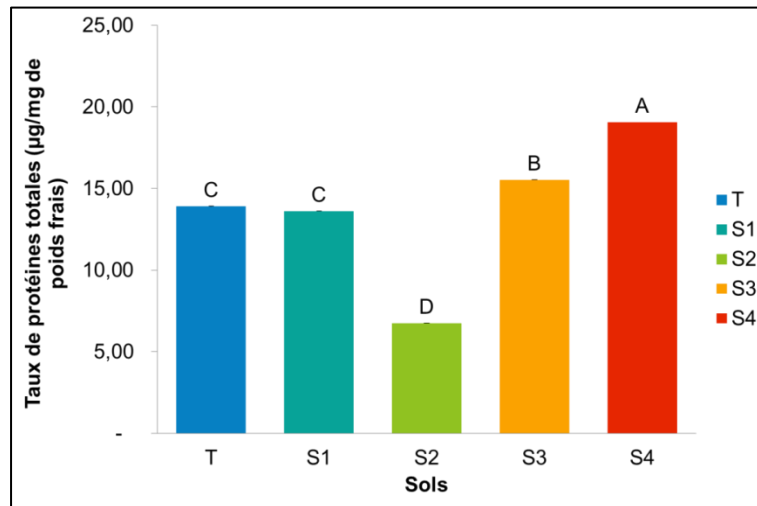


Figure 23: Effets des sols contaminés par les métaux lourds sur le contenu en protéines totales chez les vers de terre *Aporrectodea caliginosa*.

La figure (23) montre les effets des métaux lourds combinés sur la teneur en protéines totales chez les vers de terre *Aporrectodea caliginosa* in situ. Selon nos observations, le taux de protéines totales augmente de manière hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les vers de terre collectés dans les sols S3 et S4 par rapport aux témoins. Ce paramètre a été inhibé par les mixtures de métaux lourds dans les sols S1 et S2. La plus forte concentration a été mesurée chez les vers recueillis du sol S4 (19,06 µg) et la plus faible (6,75 µg) chez les vers prélevés du site 2.

1.2.2. Effets sur le taux de GSH

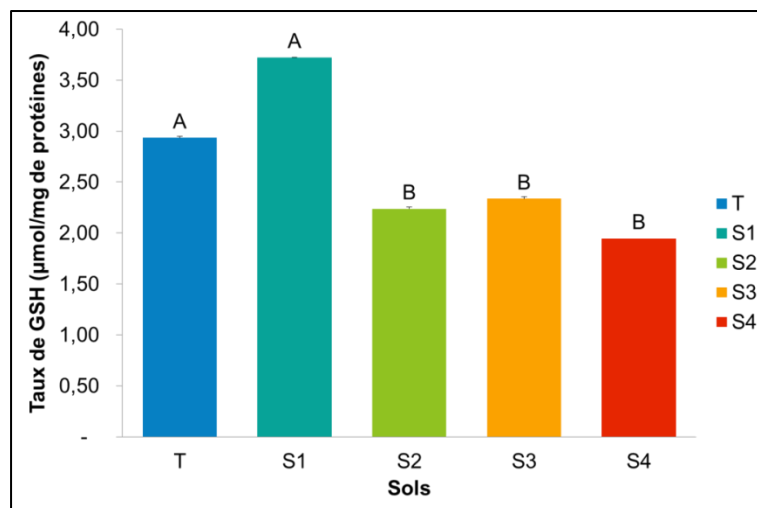


Figure 24: Variation du taux de glutathion chez le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* exposé aux métaux lourds in situ.

La figure (24) illustre les effets des métaux lourds dans le sol sur l'évolution des concentrations en GSH. Le test révèle une diminution très hautement significative ($p = 0,000$) du taux de GSH chez les vers de terre retenus du sol S2, S3 et S4 comparés aux témoins. Par contre, l'activité du glutathion (GSH) maximale, respectivement de $3,72 \mu\text{mol/mg}$ de protéines, a été détectée chez les vers exposés à S1 comparé aux différents lots.

1.2.3. Effets sur l'évolution du taux de MT

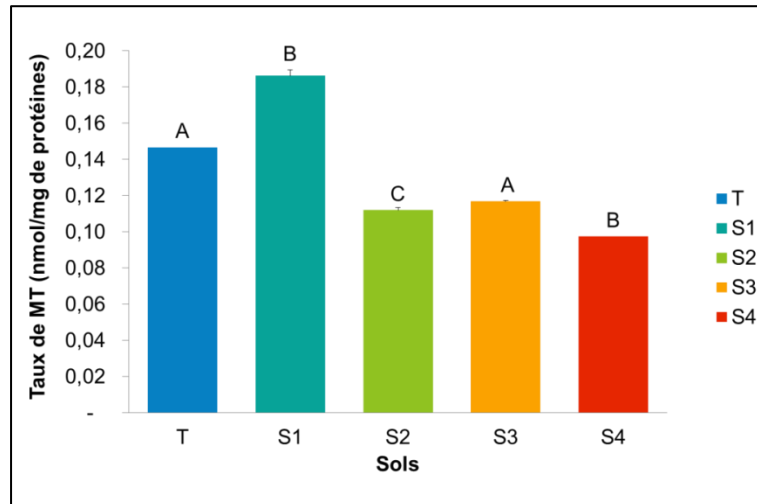


Figure 25: Effets des métaux lourds sur la variation du taux de MT chez les vers de terre *A. caliginosa*.

Les effets des métaux lourds dans le sol sur les variations du taux de la métallothionéine (MT) chez le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* sont regroupés dans la figure (25). Dans l'ensemble, un accroissement très hautement significatif de l'activité des métallothionéines ($P = 0,000$) a été remarqué chez les vers de terre échantillonnés de la parcelle S1 par rapport au témoin. Cette activité était considérablement plus réduite chez les lombrics en contact avec les sols S2, S3 et S4. L'exposition des vers aux métaux lourds dans ces terrains induit une inhibition très hautement significative ($P \leq 0,001$).

1.2.4. Effets sur l'activité enzymatique du CAT

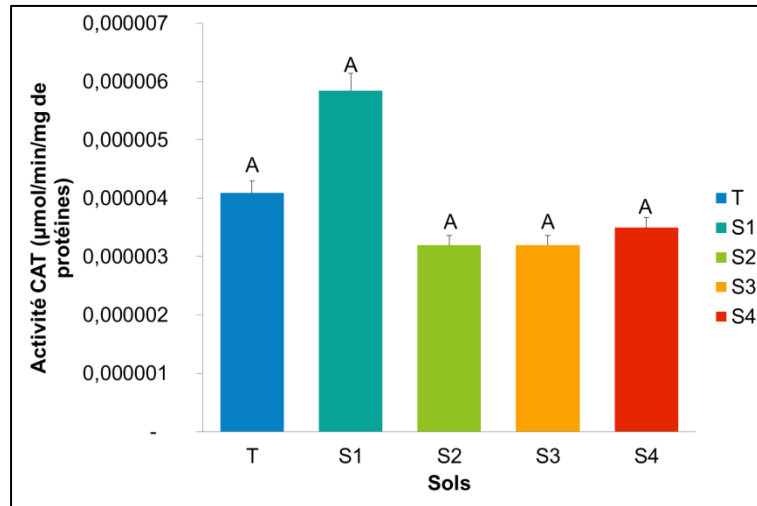


Figure 26: Evolution de l'activité CAT chez les vers de terre en fonction de la teneur en métaux lourds dans les sols.

La figure (26) présente l'évolution de l'activité CAT chez le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* en fonction des différentes concentrations en métaux lourds dans les sols (S1, S2, S3, S4). Les données obtenues indiquent une induction de l'activité CAT chez les vers de terre présents sur des sites contaminés par des mélanges de métaux, mais toujours inférieure à celle du témoin. Les niveaux de catalase étaient significativement plus élevés chez les vers de terre traités avec les métaux lourds du sol S1 que chez les vers non traités.

Nous avons constaté une réduction non significative ($p > 0,05$) de l'activité CAT chez les individus soumis à la contamination des champs S2 et S3.

1.2.5. Effets sur la variation de l'activité LOX

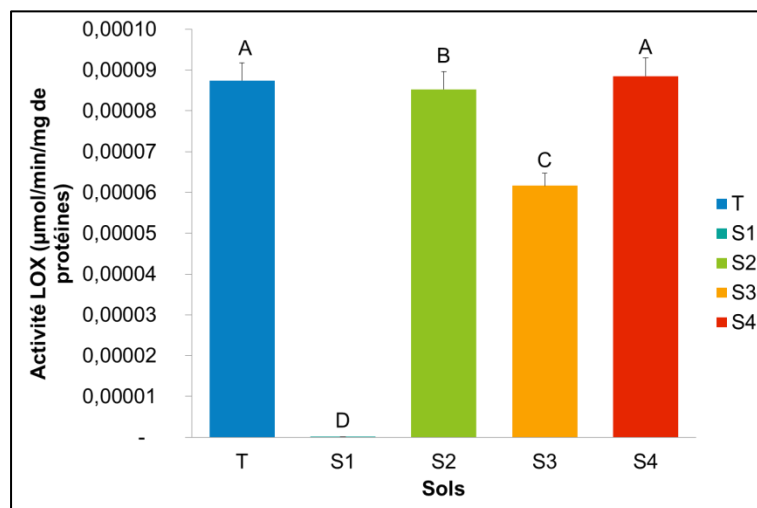


Figure 27: Effets des mixtures métalliques sur l'activité lipoxygénase chez le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* in situ.

La figure (27) met en évidence l'effet combiné des métaux lourds sur l'évolution de l'activité lipoxgénase (LOX) chez les vers de terre in situ. Globalement, le traitement aux métaux lourds dans le substrat n'a pas modifié la teneur en LOX chez les échantillons venant des sols S2 et S4. Aucune activité n'a été observée pour les lots S1. En revanche, nous avons enregistré un taux de LOX minimum chez les vers de terre exposés à S3, comparé au témoin. Cette variabilité de l'activité LOX en fonction des apports en métaux lourds dans le sol a été soulignée par l'analyse de la variance qui a révélé un effet très hautement significatif ($p < 0,001$).

2. Etude in vivo

2.1. Cas du blé dur

2.1.1. Effets des mixtures de métaux lourds sur la croissance du blé

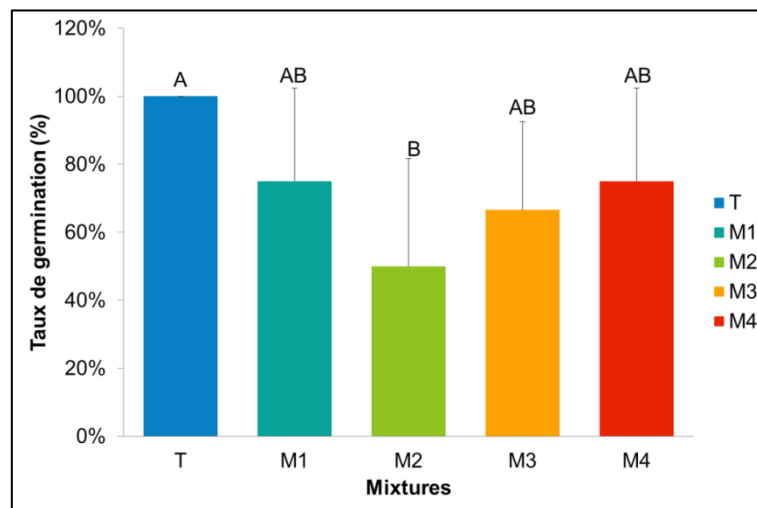


Figure 28: Effets des mixtures de métaux lourds sur la germination des plantes du blé dur.

Les effets des mixtures de métaux lourds sur la germination du blé sont illustrés dans la figure (28). L'exposition des plantes à différents mélanges de métaux (M1, M2, M3 et M4) a inhibé significativement ($P < 0,01$) la germination des graines par rapport aux témoins, et en particulier avec le traitement de mixture la plus élevée (M2). Il s'avère que les plus faibles traitements en métaux lourds (M3 et M4) ont favorisé la germination en fonction du temps.

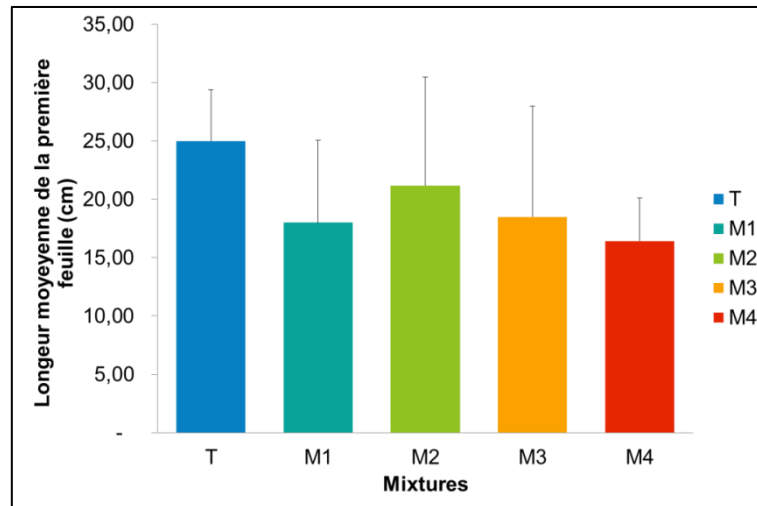


Figure 29: Variations de la longueur de la première feuille des plantes de blé traitées avec des mixtures de métaux lourds.

Le stress métallique exogène a affecté négativement la longueur des feuilles de blé comparé aux contrôles (Figure 29). En effet, le traitement des graines par les mixtures de métaux lourds a réduit la croissance foliaire ($P > 0,05$) des plantules en fonction des différentes concentrations M1, M2, M3 et M4 pour atteindre respectivement les valeurs 18, 21, 18 et 16 cm, comparées à la valeur témoin (25 cm), soit une diminution de 28, 15, 26 et 34 %, prouvant que la mixture M4 est le traitement qui affecte le plus la longueur des feuilles.

2.1.2. Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux de protéines totales

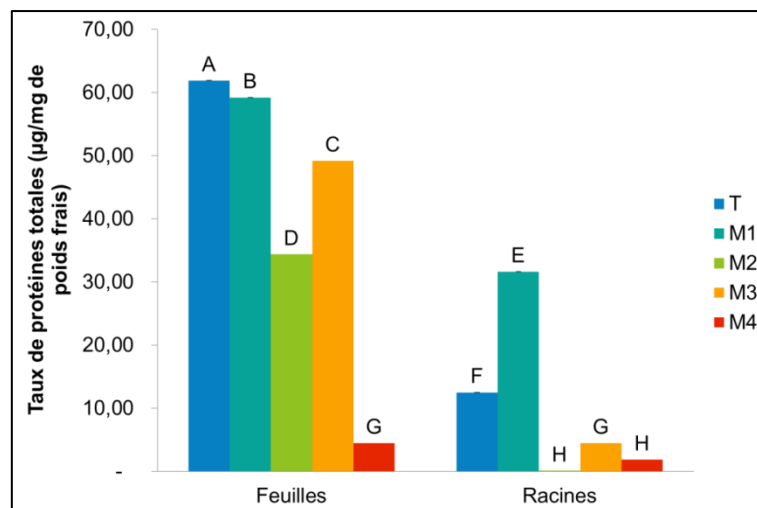


Figure 30: Effets des mixtures métalliques sur le contenu des protéines totales dans les feuilles et les racines du blé.

Les teneurs en protéines totales chez le blé dur sont présentées dans la figure (30). Chez les plantules issues de graines traitées avec les mixtures métalliques, une diminution significative ($p < 0,001$) pour la teneur en protéines totales a été observée par rapport aux plantes non traitées. L'effet maximal a été révélé pour le mélange M2 et M4 où les valeurs sont respectivement 34,33 et 4,45 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de protéines totales chez les feuilles, et 0,04 ; 1,81

$\mu\text{g}/\text{mg}$ chez les racines, par rapport aux contrôles. L'exposition à M1 et M3 a légèrement diminué la concentration en protéines dans les feuilles du blé, tandis que M2 et M4 ont réduit de manière significative ($p = 0,000$) la synthèse protéique dans les parties aériennes des plantules. Par contre, chez les racines du blé, le contenu en protéines a augmenté avec la concentration M1 et réduit avec les autres traitements.

2.1.3. Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux du GSH

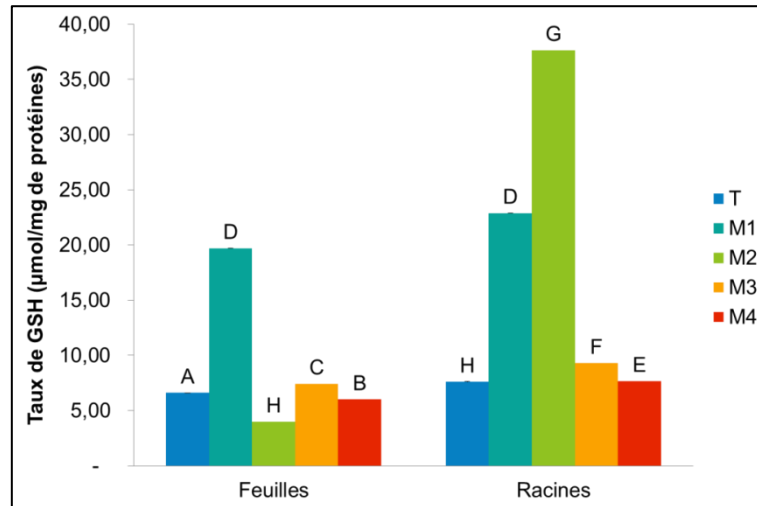


Figure 31: Effets des mixtures de métaux lourds sur les concentrations de GSH dans le blé dur (*Triticum durum* Desf.).

Les quantités de glutathion réduit (GSH) dans les tissus végétaux sont regroupées dans la figure (31). L'analyse des données a caractérisé une augmentation du taux de GSH en fonction des différentes concentrations métalliques appliquées chez les feuilles et racines du blé. Le plus fort taux de GSH est enregistré pour M1 ($19,70 \mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines) chez les feuilles et pour M2 ($37,65 \mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines) chez les racines. Cependant, seule la mixture M2 entraîne une diminution significative de ce taux chez les feuilles du blé dur équivalent à 39,63 %.

2.1.4. Effets des mixtures de métaux lourds sur le contenu en SH_T

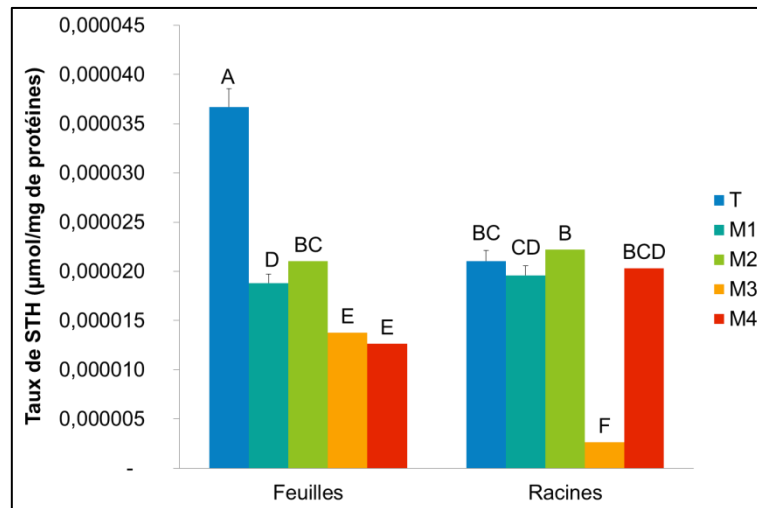


Figure 32: Mesure des composés thiols non protéiques acido-solubles chez le *Triticum durum* exposé à des mixtures métalliques.

Les résultats représentant l'activité des thiols non protéiques acido-solubles (SH_T) en fonction des différentes concentrations de métaux lourds après 1 mois de traitement sont reportés dans la figure (32). On remarque une diminution très hautement significative (P = 0,000) et proportionnelle aux différentes doses des niveaux de SH_T dans les deux parties du blé dur traité par les diverses concentrations chimiques, par rapport au contrôle. Comparativement aux plantules de blé non exposées, la mixture M2, a influencé très significativement l'activité des groupes thiols dans les racines de blé.

2.1.5. Effets des mixtures de métaux lourds sur la teneur en PCs

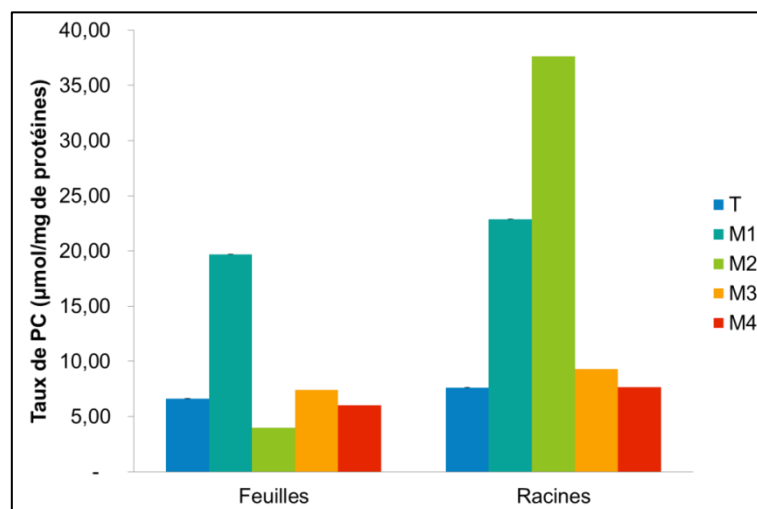


Figure 33: Variation du contenu en phytochélatines chez les plantes du blé sous stress métallique.

Les effets du stress métallique sur l'activité des phytochélatines dans les feuilles et les racines du blé sont mis en évidence dans la figure (33). La présence des six métaux (Cd, Cr,

Cu, Ni, Fe et Mn) dans le sol a stimulé de manière non significative les concentrations en PCs ($P \geq 0,05$). De toute évidence, cette activité a été accrue chez le système foliaire et racinaire de *Triticum durum* Desf. traité avec des mixtures de métaux par rapport aux témoins. La teneur en PCs était plus élevée dans les racines que dans les feuilles de blé. Après traitement avec la concentration M2, la capacité de chélation des PCs était réduite dans les feuilles et fortement augmentée dans les racines avec des valeurs respectives de 3,99 ; 37,65 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines.

2.1.6. Effets des mixtures métalliques sur l'activité CAT

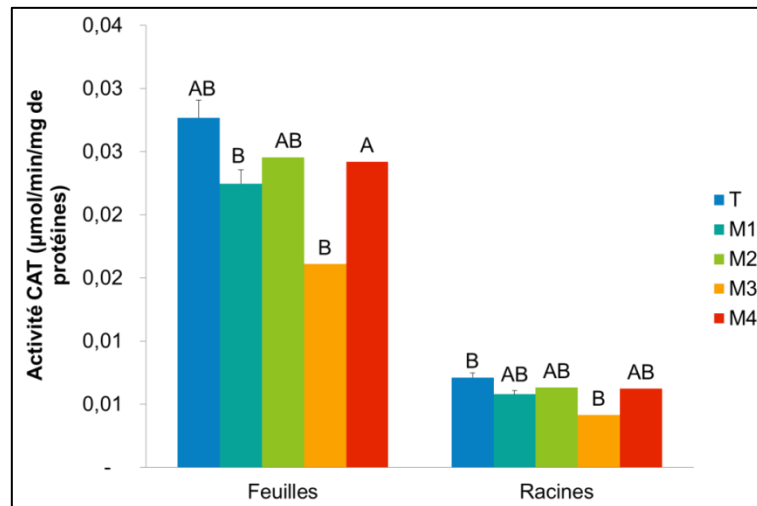


Figure 34: Effets des métaux combinés sur l'évolution de l'activité enzymatique de la catalase chez le blé dur.

La figure (34) indique l'évolution de l'activité CAT chez le blé après exposition aux métaux. Le traitement avec différentes concentrations de métaux a entraîné une diminution hautement significative ($P < 0,01$) de l'activité catalase, mais qui reste inférieure par rapport aux plantes non traitées (T). La plus forte diminution a été notée pour M3 chez les feuilles équivalent à 0,02 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines. Alors que chez les racines, l'activité enzymatique présente presque les mêmes valeurs.

2.1.7. Effets des mixtures métalliques sur l'activité LOX

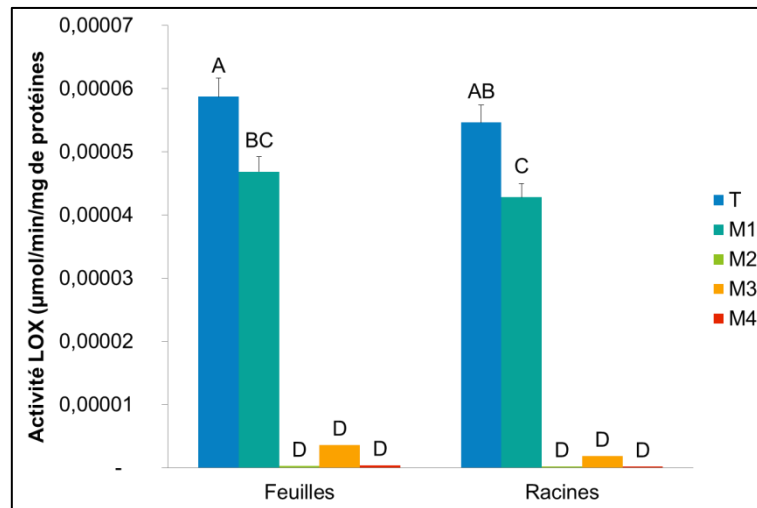


Figure 35: L'activité antioxydante de la LOX dans les feuilles et les racines de blé en réponse à l'exposition aux métaux.

La peroxydation lipidique chez le blé dur *Triticum durum* a été mesurée en fonction de l'activité lipoxygénase (Figure 35). Une déplétion très hautement significative ($P \leq 0,001$) de l'activité LOX a été signalée dans les racines et les feuilles du blé dur. Les plus fortes concentrations testées (M2 et M4) ont désactivé très significativement ($P = 0,000$) l'activité LOX. Cette dernière était analogue dans les feuilles du blé contaminé par les métaux combinés que celle dans les racines du blé.

2.1.8. Phytoaccumulation des métaux lourds dans le blé dur in vivo

Les teneurs en métaux lourds dans les racines et les feuilles du blé dur *Triticum durum* Desf. in vivo sont indiquées dans le tableau suivant.

Tableau 31: Concentrations des métaux lourds dans les différentes parties du blé dur in vivo (en mg/kg) en fonction des mixtures métalliques.

Métaux	Feuilles du blé dur in vivo					Racines du blé dur in vivo				
	T	M1	M2	M3	M4	T	M1	M2	M3	M4
Cd	- 1,5	- 1,3	- 1,3	- 1,5	- 1,5	- 1,5	- 1,0	- 1,2	- 1,5	- 1,5
Cr	- 13,7	- 11,1	- 11,1	- 13,1	- 13,5	- 14	- 9,4	- 10,6	- 12,9	- 13,1
Cu	- 2,6	1	- 1,1	- 2,1	- 2,4	- 3,1	- 0,5	- 1,5	- 1,8	- 2,5
Fe	- 35,2	48	27	128	- 13,5	- 37,1	43	- 2,3	29,4	- 31,2
Mn	0,1	67	9	30	2	0,6	18,8	5,8	8,7	2,8
Ni	- 8,1	- 8,8	- 11,5	- 11,7	- 12	- 3,9	- 5,6	- 11	- 11,1	- 11,4

Chez le blé dur *in vivo*, les teneurs en cadmium, chrome, cuivre, fer, manganèse et nickel mesurées dans les racines et les feuilles sont très variables en fonction du niveau de contamination par mixture. Par ailleurs, ces métaux ne sont pas concentrés avec la même intensité. A l'exception du manganèse qui s'accumule modérément, le fer est significativement concentré dans les feuilles du blé traité avec les mixtures M1, M2 et M3, et dans les racines du blé exposé à la mixture M1. En comparant les niveaux de métaux entre les deux parties, les teneurs trouvées dans les racines du blé dur sont plus élevées que celles déterminées dans les feuilles. Les différentes valeurs obtenues pour le Cd, Cr, Cu, Fe, Mn et Ni sont inférieures aux seuils critiques de métaux lourds dans les plantes définis dans le tableau 7.

2.2. Cas du ver de terre

2.2.1. Effets sur le taux de protéines totales

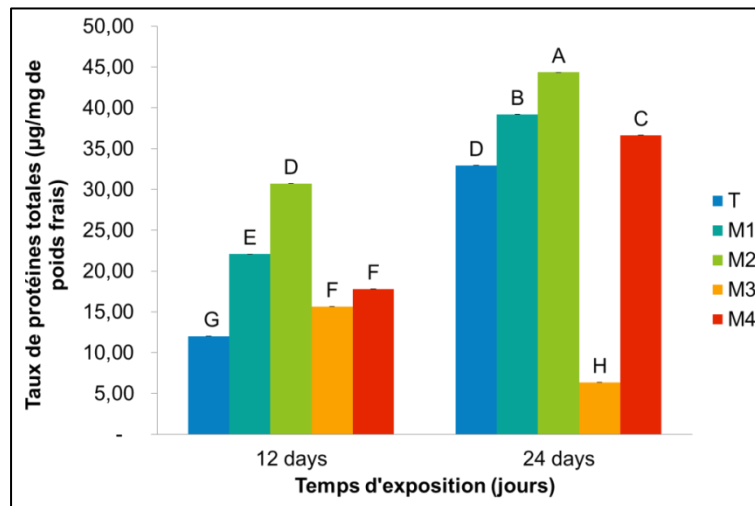


Figure 36: Effets des mixtures métalliques sur le taux de protéines totales chez les vers de terre en fonction du temps.

La figure (36) illustre les effets de mixtures de métaux lourds sur le taux des protéines totales chez les vers de terre. Nos résultats montrent qu'en présence des différentes concentrations, le taux de protéines totales tend à augmenter de manière dose dépendante et très hautement significative ($p < 0,001$) comparé au témoin chez les vers terres exposés aux trois concentrations (M1, M2 et M4). La plus forte valeur est enregistrée chez les vers exposés à la mixture M2 (j12 : 30,72 $\mu\text{g}/\text{mg}$; et j24 : 44,36 $\mu\text{g}/\text{mg}$). Alors qu'une réduction spectaculaire et hautement significative ($p = 0,000$) du taux des protéines est enregistrée pour M3 après 24 jours d'exposition.

2.2.2. Effets sur l'évolution du taux de GSH

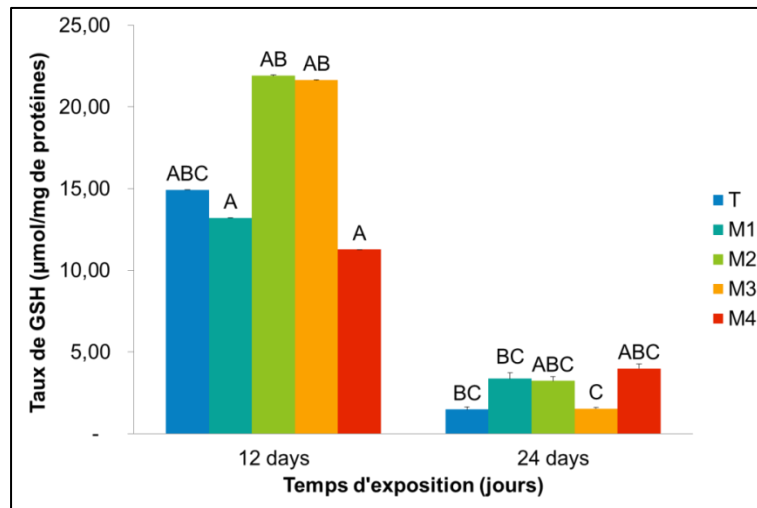


Figure 37: Effets des mixtures métalliques sur le taux de GSH chez le ver de terre *Aporrectodea giardi*.

La figure (37) présente les effets des mélanges de métaux lourds sur l'évolution du taux de glutathion (GSH). L'analyse des résultats obtenus révèle une augmentation très hautement significative ($p = 0,000$) du taux de GSH après une exposition aux mixtures M2 et M3 sur une période de 12 jours, et qui atteint respectivement 21,91 ; 21,64 µmol/mg de protéines. Cependant, on remarque une diminution dose dépendante de l'activité du GSH après 24 jours de traitement et chez les vers traités durant 12 jours par M1 et M4 comparativement au lot témoin.

L'analyse de la variance à deux critères (ANOVA) montre un effet dose significatif ($P \leq 0,05$), et un effet temps très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

2.2.3. Effets sur la variation du taux de MT

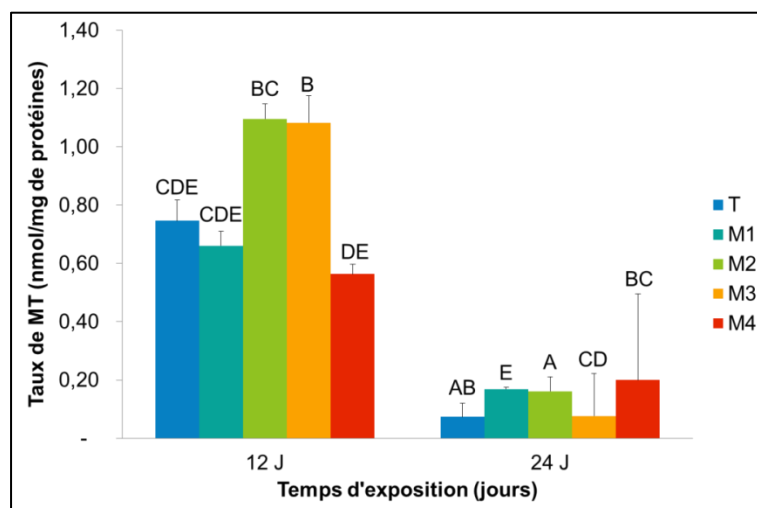


Figure 38: Variation du taux de MT chez le ver de terre *Aporrectodea giardi* exposé aux mixtures métalliques.

La figure (38) met en évidence les variations du taux de la métallothionéine (MT) chez le ver de terre *Aporrectodea giardi*. Les traitements des vers par les différentes mixtures engendrent une augmentation très significative ($p = 0,000$) de l'activité MT dès le 12^{ème} jour par rapport au témoin, respectivement à la mixture M2 et M3, où nous remarquons une activité maximum de l'ordre de 1,08 à 1,10 nM/mg protéines pour les vers traités.

Après 24 jours de mise en contact avec les mixtures métalliques, l'activité de cette enzyme tend à diminuer d'une manière très hautement significative ($p \leq 0,001$) et dose dépendante mais reste toujours plus importante comparée à celle du témoin.

2.2.4. Effets sur la variation de l'activité CAT

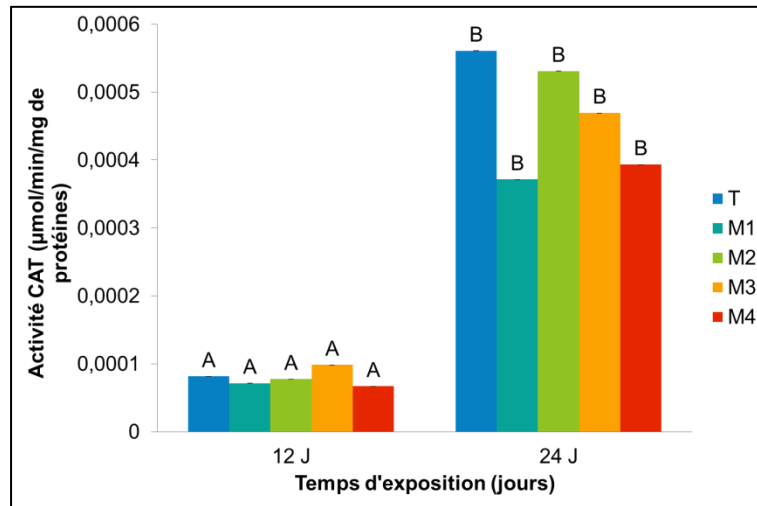


Figure 39: Effets des métaux lourds sur la variation de l'activité CAT chez les vers de terre pendant la durée d'exposition.

La figure (39) met en évidence la variation de l'activité CAT chez le ver de terre *Aporrectodea giardi* en fonction des différentes concentrations. Nos résultats stipulent une inhibition très significative ($p \leq 0,001$) de l'activité CAT chez les vers de terre traités pendant 12 jours par l'ensemble des concentrations par rapport aux témoins.

Après 24 jours d'exposition des vers de terre aux mixtures de métaux lourds, nous avons constaté une déplétion non significative ($p > 0,05$) de l'activité CAT chez les vers de terre traités en fonction des différents traitements par rapport aux témoins.

L'analyse de la variance (ANOVA) révèle un effet temps très hautement significatif entre 12 et 24 jours du traitement ($p = 0,000$).

2.2.5. Effets sur l'activité enzymatique du LOX

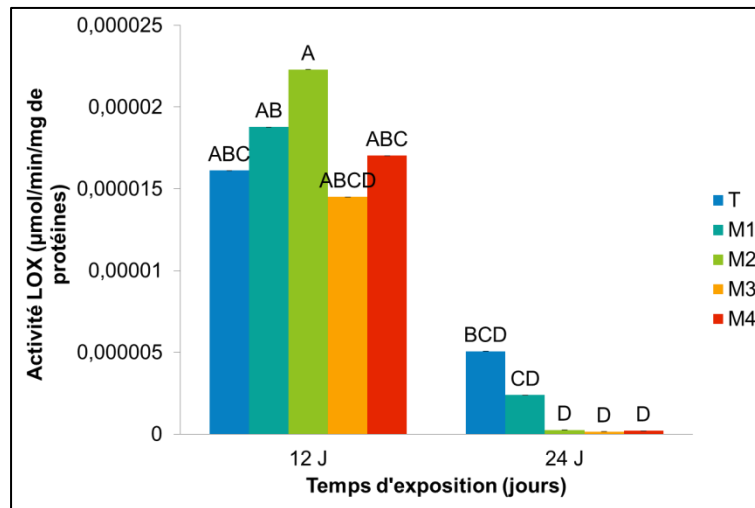


Figure 40: Effets des mixtures métalliques sur l'évolution de l'activité enzymatique du LOX chez le ver de terre *Aporrectodea giardi*.

La figure (40) présente les effets des mixtures de métaux lourds sur l'évolution de l'activité lipoxygénase (LOX). Pour une période de 12 jours, nous remarquons une stimulation non significative ($p > 0,05$) du taux de LOX. Selon nos résultats, nous constatons que le traitement des vers de terre par les différentes mixtures durant la période de 24 jours, induit une déplétion dose dépendante du taux de LOX et rejoint celle du témoin quel que soit le traitement. Cette diminution est significative ($p \leq 0,05$) à très hautement significative ($p \leq 0,001$) pour les concentrations des mixtures (M1, M2, M3, M4).

Partie 3 : Evaluation des risques sanitaires, toxicologiques et écotoxicologiques (une approche intégrée)

1. Evaluation du risque sanitaire des résidents et agriculteurs exposés

1.1. Caractéristiques de l'échantillon

1.1.1. Répartition hommes/femmes

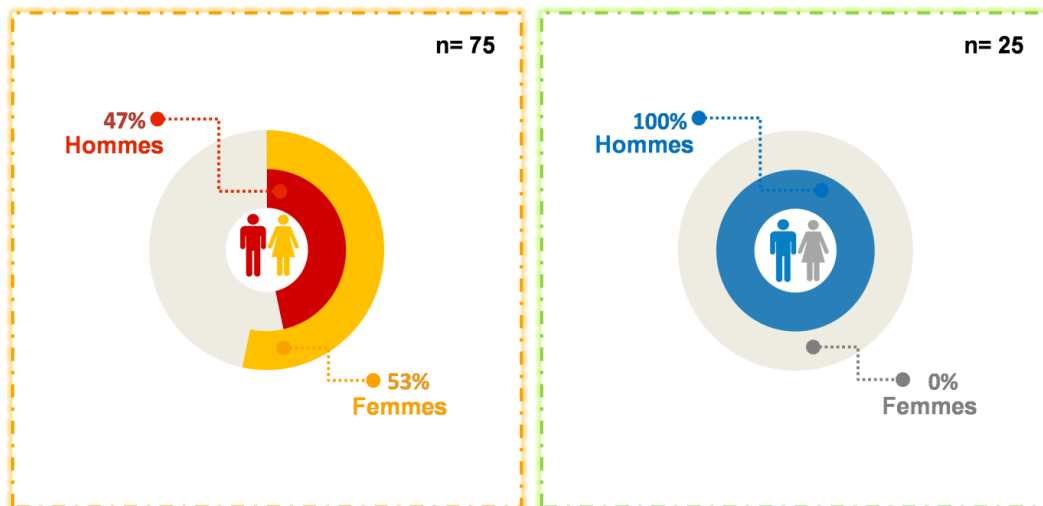


Figure 41: Répartition de la population résidente et des agriculteurs selon le sexe.

La répartition des résidents et des agriculteurs interrogés par sexe est représentée dans la figure (41) : 53 % sont de sexe féminin et 47 % sont masculins. Ces proportions sont conformes aux statistiques réelles de la population d'El-Karma où les femmes sont majoritaires.

Chez les agriculteurs, seuls les hommes ont répondu au questionnaire. Ils constituent la totalité du personnel (100 %), soit 25 travailleurs. Notre échantillonnage étant aléatoire dans la population étudiée, ce déséquilibre entre les hommes et les femmes s'explique par la faible présence féminine dans le secteur agricole concerné par l'étude.

1.1.2. Répartition de l'échantillon par groupes d'âge

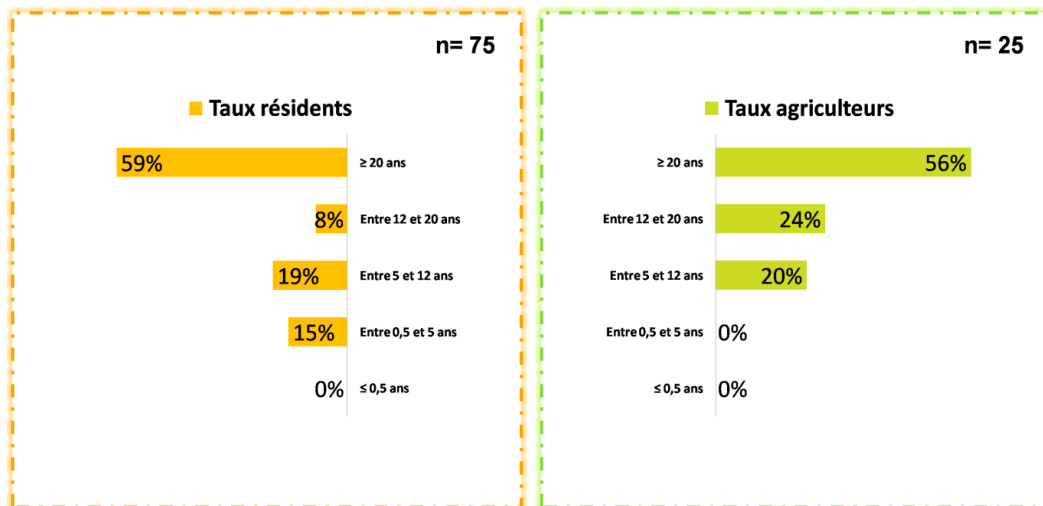


Figure 42: Répartition des résidents et des agriculteurs selon l'âge.

La figure (42) met en évidence la répartition des populations en 5 classes d'âge. On remarque que l'ensemble de l'échantillon est relativement adulte (≥ 20 ans), soit 59 % chez les résidents contre 56 % chez les travailleurs agricoles. La tranche d'âge comprise entre 5 et 20 ans ne forme qu'une partie minoritaire de la population totale. En revanche, la fréquence des enfants de moins de 5 ans est particulièrement élevée chez les résidents (15 %).

1.2. Aspects environnementaux

1.2.1. Environnement et qualité de vie résidentielle

1.2.1.1. Durée d'exposition des résidents

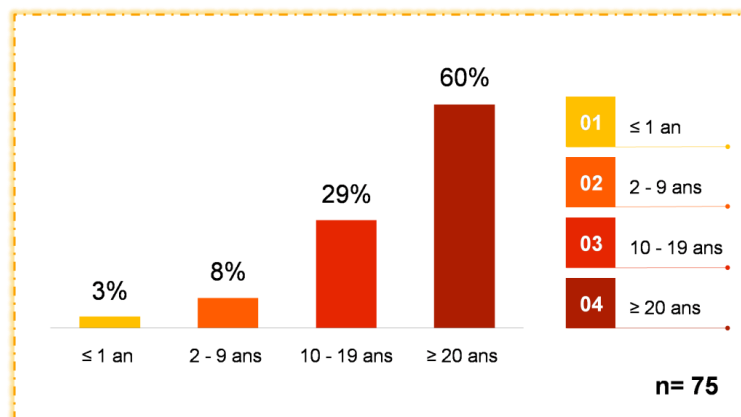


Figure 43: Depuis quand habitez-vous dans ce logement ?

La figure (43) indique la durée de résidence pour les citoyens vivant à proximité de la zone polluée. Nous constatons que la période d'exposition a constamment augmenté avec respectivement : 3 % ont une durée de moins d'un an, 8 % entre 2 et 9 ans, 29 % entre 10 et

19 ans. La plus longue vie résidentielle s'étend sur plus de 20 ans avec un pourcentage de 60 %.

1.2.1.2. Effets de la pollution industrielle sur les résidences à proximité

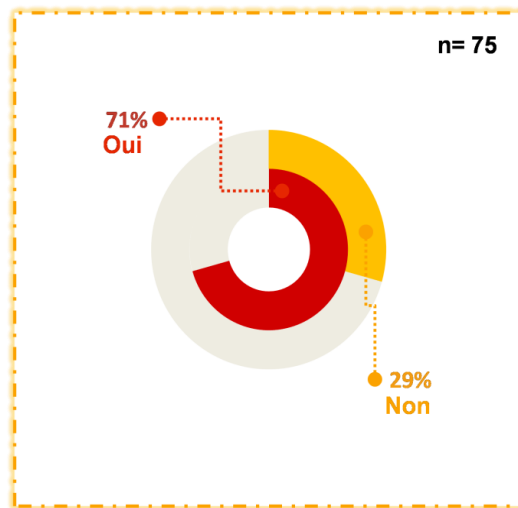


Figure 44: Sensation de mauvaises odeurs venant du complexe industriel.

La figure (44) montre la prévalence des résidents répartis par leur sensibilité aux odeurs désagréables émises par le complexe industriel. On estime que 71 % de la population est en mesure de sentir des mauvaises odeurs. Toutefois, la minorité des personnes interrogées se déclare être satisfaite de la qualité de l'air ambiant (29 %).

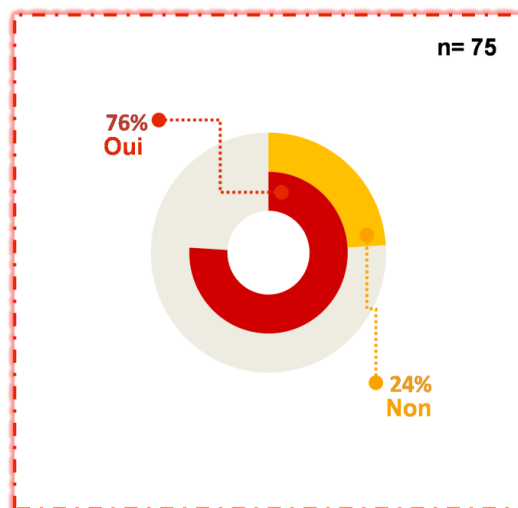


Figure 45: Problème d'humidité dans les résidences.

Le problème d'humidité résultante pour des conditions extérieures données est illustré dans la figure (45). Il a été constaté qu'un haut niveau d'humidité dans l'air a été observé chez 76 % des résidents et 24 % d'entre eux disposaient d'un climat intérieur optimal dans leur logement.

1.2.1.3. Comportements des résidents

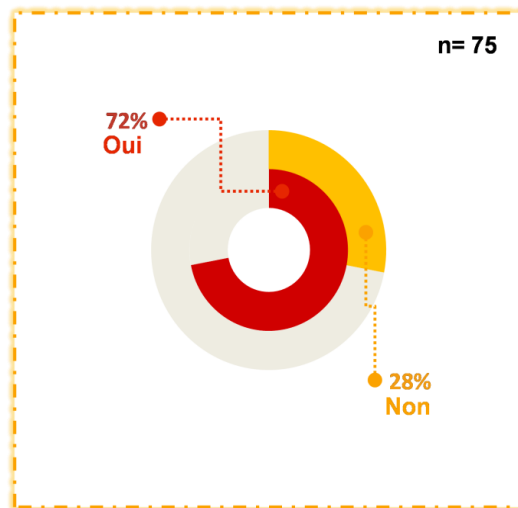


Figure 46: Fermeture des fenêtres face au problème des substances odorantes émises.

Le diagramme ci-contre présente la réaction des résidents vis-à-vis des odeurs provenant du complexe. Dans leur grande majorité, 72 % des enquêtés ont affirmé le besoin de fermer leurs fenêtres face à cette situation. Les autres (28 %) ont répondu négativement.

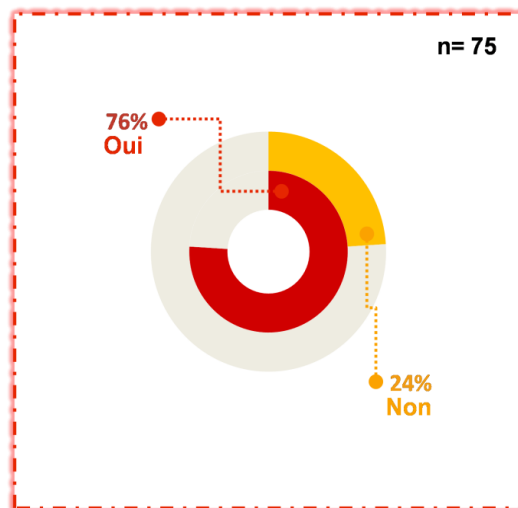


Figure 47: Activité des enfants dans les champs proches du site industriel.

La figure (47) exprime les résultats issus de l'enquête concernant les activités des enfants. 24 % des citoyens interrogés déclarent que peu d'enfants jouent dans la boue et traînent dans les champs à proximité du site industriel. Par ailleurs, la grande majorité d'entre eux, soit 76 %, estiment que les enfants fréquentent régulièrement les parcelles pour jouer.

1.2.2. Environnement et qualité de vie au travail en agriculture

1.2.2.1. Durée et heures de travail

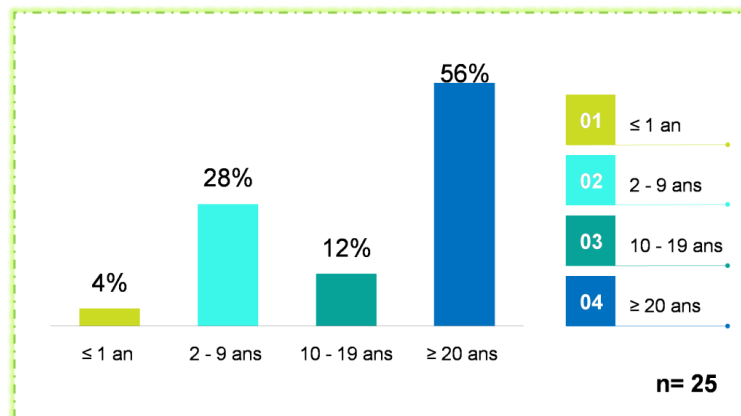


Figure 48: Durée d'exercice de la profession agriculteur.

Le digramme de la durée de travail des agriculteurs est présenté dans la figure ci-dessus. Une très petite minorité des répondants (4 %) a travaillé moins d'un an en agriculture, alors que 28 % ayant une durée de 2 à 9 ans dans la profession. La proportion d'agriculteurs en activité entre 10-19 ans est de 12 %, tandis que celle des agriculteurs ayant plus de 20 ans d'expérience s'élève à 56 %.

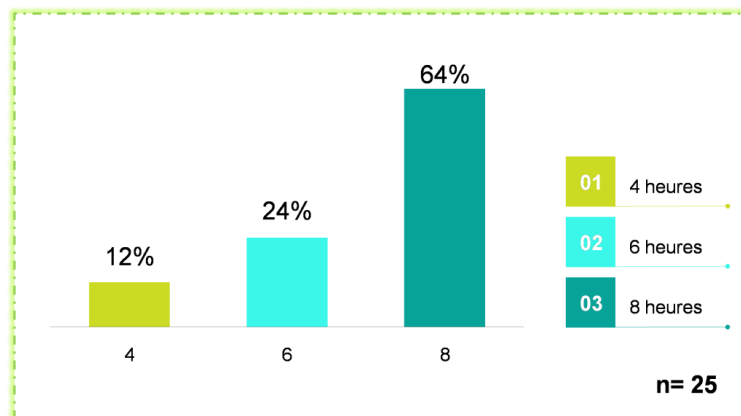


Figure 49: Heures de travail par jour.

Le rythme de travail des agriculteurs s'établit à 4, 6 et 8 heures par jour (Figure 49). Une faible proportion du personnel a déclaré avoir travaillé 4 heures (12 %) ou 6 heures (24 %) durant la journée. 64 % ont une durée habituelle hebdomadaire de 8 heures.

1.2.2.2. Comportements des agriculteurs

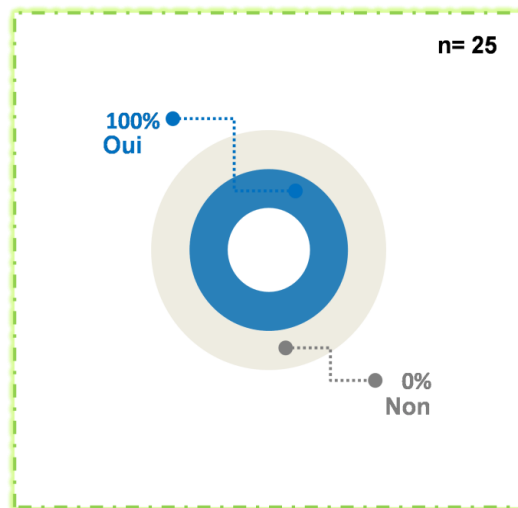


Figure 50: Utilisation de l’eau issue de puits pour l’irrigation agricole.

Le digramme en anneau (Figure 50) montre l’utilisation de l’eau souterraine principalement celle issue de puits pour l’irrigation agricole des sols impliqués dans notre étude. Cette technique a été utilisée à grande échelle par la totalité des agriculteurs interrogés (100 %).

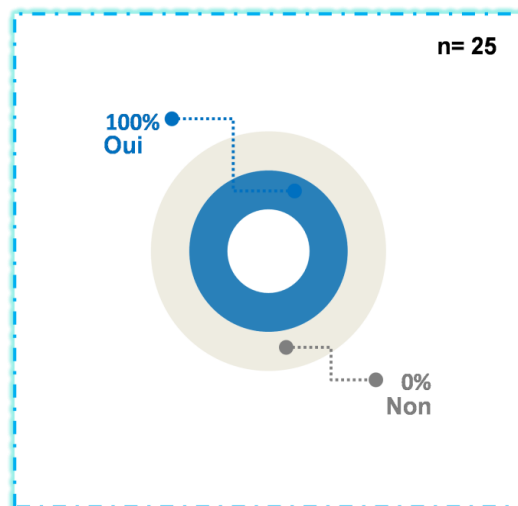


Figure 51: Utilisation des techniques culturelles traditionnelles.

Bien qu’il existe plusieurs méthodes culturelles différentes, la figure (51) souligne que seules les techniques de culture traditionnelles sont employées par les agriculteurs; en fait, nul n’a utilisé des techniques modernes (0 %).

1.2.2.3. Équipements de protection individuelle

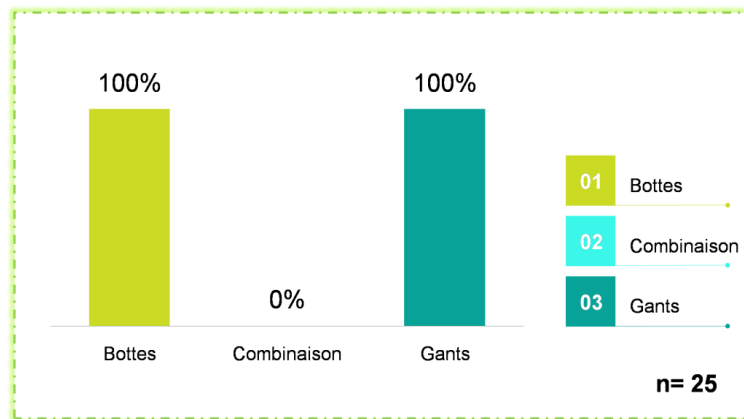


Figure 52: Les équipements de protection individuelle (EPI) utilisés.

La question relative à l'utilisation des mesures de sécurité individuelle permet de constater que les exploitants agricoles questionnés, soit 100 %, se mettent toujours sous protection par des équipements adéquats.

Parallèlement aux mesures portant sur le matériel, les travailleurs opérant au site, sont moins susceptibles de se protéger au moyen d'une combinaison (0 %). Et 100 % des répondants étaient toujours équipés de bottes et de gants (Figure 52).

1.3. Etat de santé de l'échantillon

1.3.1. Prévalence du tabagisme

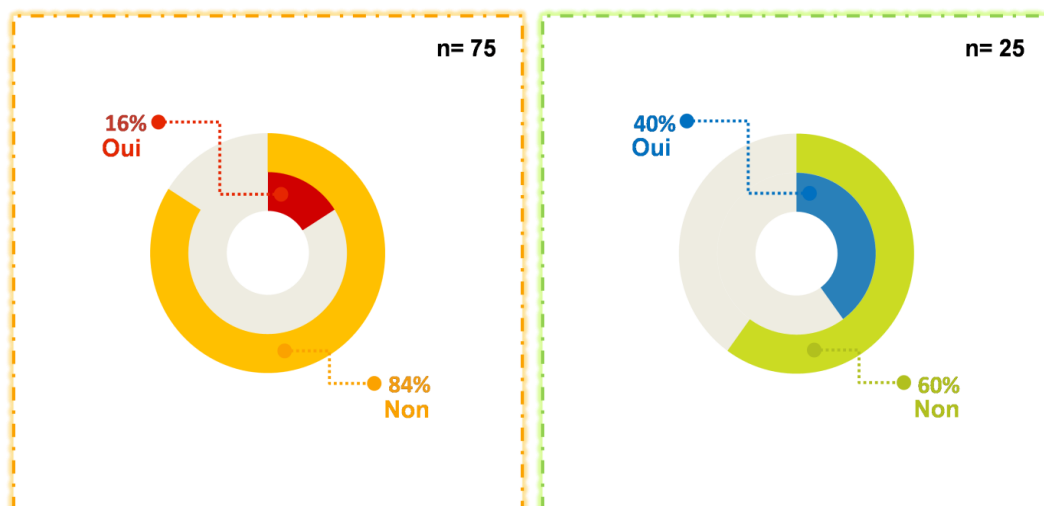


Figure 53: Répartition des résidents et des agriculteurs par consommation de tabac.

La figure (53) affiche la répartition des résidents et des agriculteurs selon la prévalence du tabagisme. 84 pourcents des résidents se déclarent non-fumeurs comparativement à 16 pourcents de fumeurs. Il s'agit en réalité d'une population composée en majorité de non-fumeurs. La figure indique également que la proportion de non-fumeurs parmi les agriculteurs

interrogés dépasse le nombre des sujets fumeurs avec 60 % non-consommateurs de tabac et 40 % de personnes tabagiques.

1.3.2. Répartition des populations selon leur activité sportive

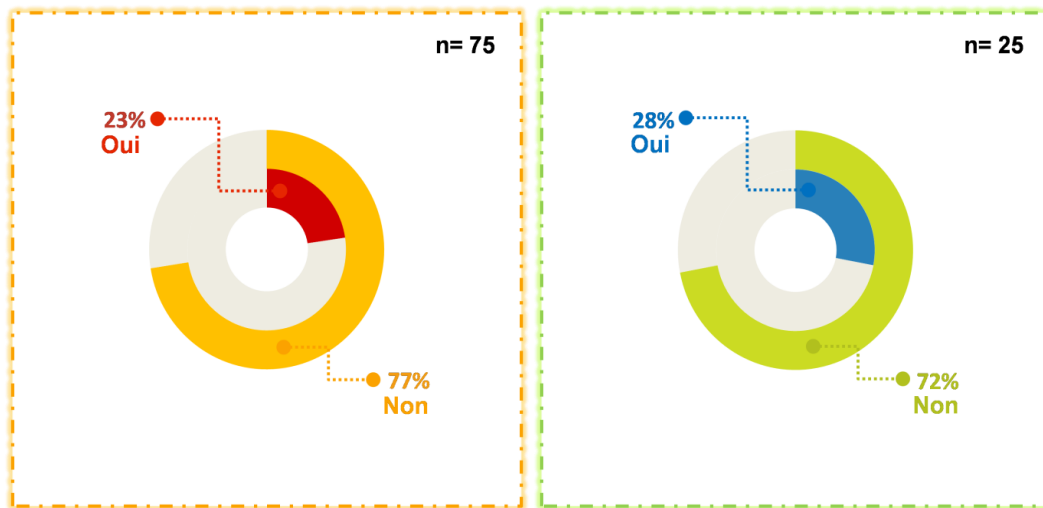


Figure 54: Répartition des résidents et des agriculteurs selon leur activité sportive.

La figure (54) présente la répartition des habitants et des agriculteurs selon leur activité sportive. Le nombre de citoyens en activité physique est de l'ordre de 23 %, contre un pourcentage de 77 % sédentaires. Le taux des agriculteurs inactifs est très élevé (72 %) en comparaison avec ceux sportifs (28 %).

1.3.3. Répartition des populations selon leurs habitudes alimentaires

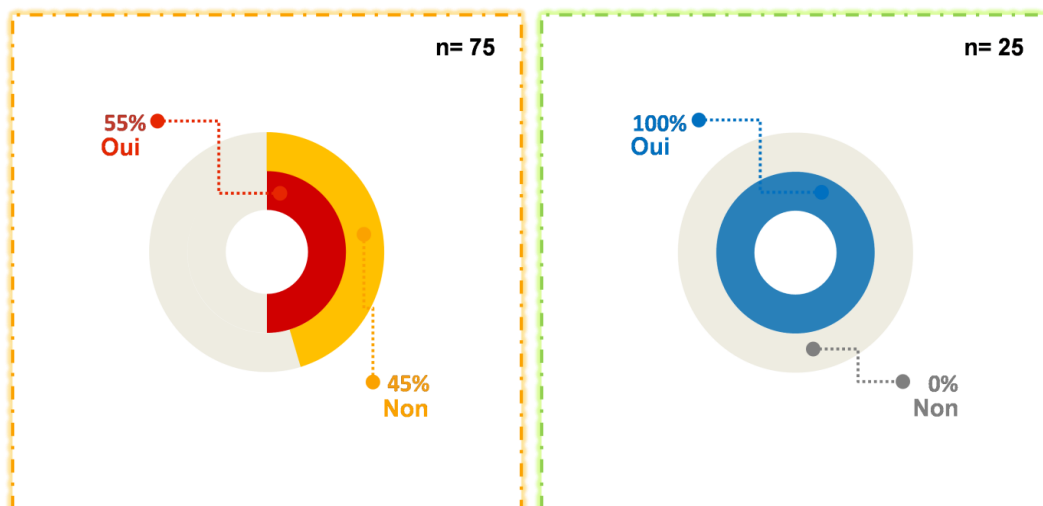


Figure 55: Répartition des résidents et des agriculteurs selon leur consommation des légumes et/ou des fruits cultivés dans les sols à proximité.

La figure (55) définit la répartition des individus consommant des légumes et/ou des fruits cultivés dans les sols à proximité. Chez 75 % des citoyens interrogés, 55 % se nourrissent des cultures maraîchères produites dans le milieu d'étude, et 45 % n'en font pas

partie. Aussi, un taux significatif de consommation des végétaux provenant des parcelles étudiées est noté chez les cultivateurs, où 100 % des agriculteurs se nourrissent de leurs récoltes.

1.3.4. Répartition des populations par type d'eau consommé

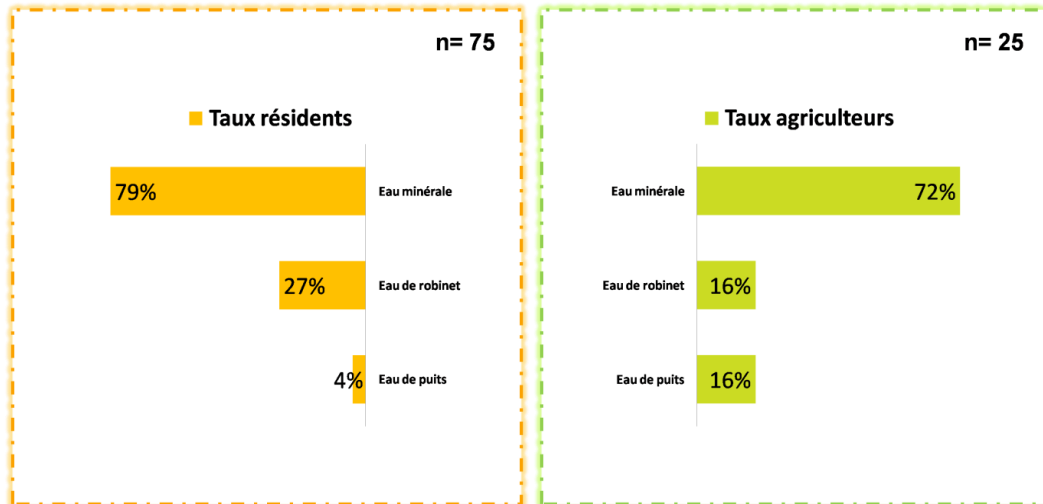


Figure 56: Répartition des résidents et des agriculteurs par type d'eau consommée.

La consommation d'eau au quotidien chez les résidents est indiquée dans le digramme ci-dessus : 79 % des foyers consomment de l'eau minérale, 27 % de l'eau de robinet et 4 % ne peuvent avoir accès qu'à l'eau de puits.

La figure (56) détermine ainsi la répartition des agriculteurs en fonction des types d'eaux consommées. Un pourcentage constant des exploitants agricoles (16 %) utilisant l'eau issue de puits et l'eau de robinet. Ceux buvant de l'eau minérale représentent 72 %.

1.3.5. Répartition des maladies

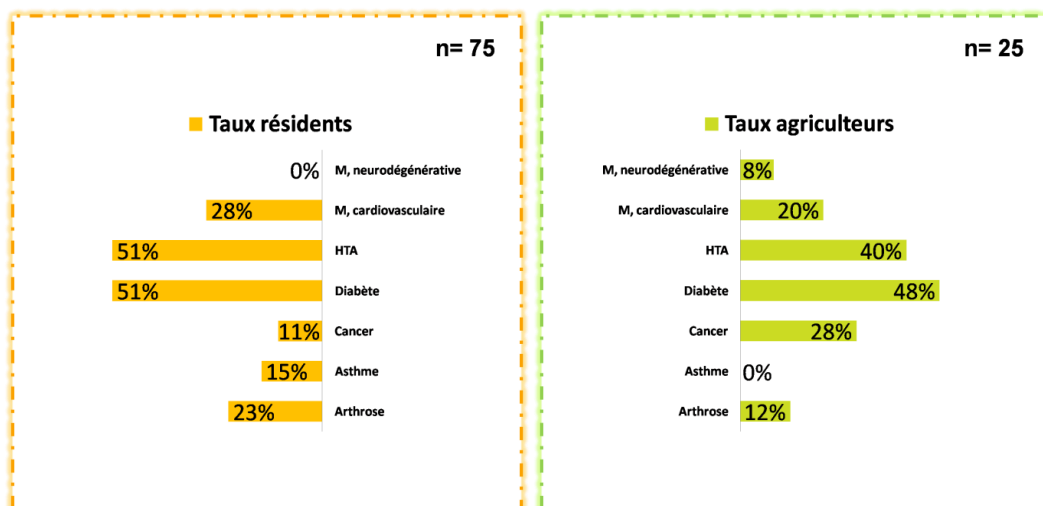


Figure 57: Répartition de certaines pathologies chez les résidents et les agriculteurs.

La figure (57) montre que sur les 75 habitants, 23 % ont souffert d'arthrose, 15 % d'un asthme, 11 % d'un cancer, 51 % sont hypertendus et diabétiques, et 28 % ont eu une maladie cardiovasculaire. Et aucun cas de maladies neurodégénératives n'a été relevé parmi les répondants.

La prévalence des maladies selon les agriculteurs se répartit comme suit : arthrose (12 %), cancer (28 %), diabète (48 %), hypertension artérielle (40 %), les maladies cardiovasculaires ont été mises en évidence chez 20 % des sujets. Quant aux maladies neurodégénératives, un pourcentage de 8 % est décelé.

1.3.6. Répartition des symptômes

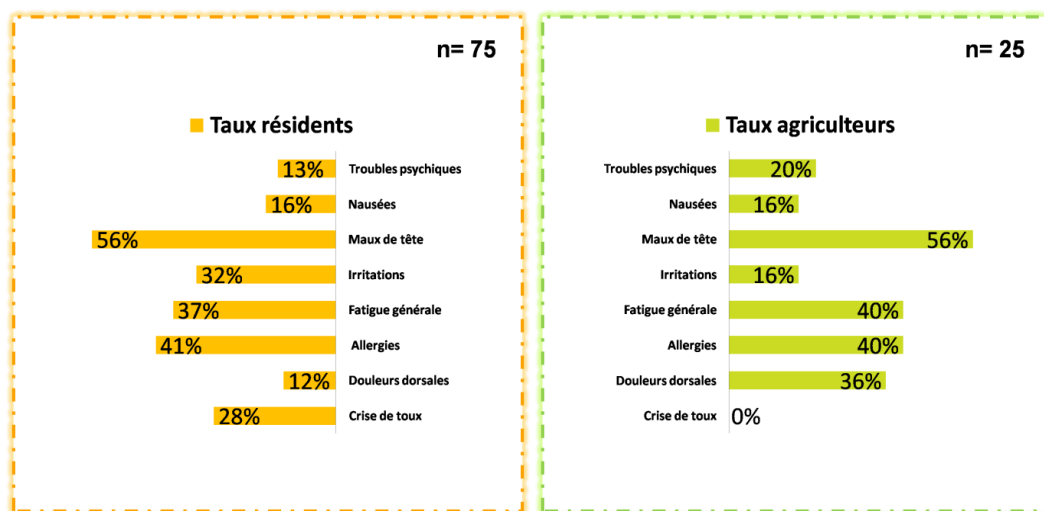


Figure 58: Répartition des symptômes chez les résidents et les agriculteurs.

La figure (58) illustre la répartition des symptômes chez les résidents et les agriculteurs. Les symptômes ressentis par les résidents se classent comme suit : les maux de tête représentent 56 %, les allergies cutanées 41 %, la fatigue générale 37 %, les irritations nasales et oculaires 32 %. Les crises de toux prennent la cinquième position avec 28 %, les nausées 16 %, les troubles psychiques 13 %, et les douleurs dorsales en dernière position avec 12 %.

De la même façon, nous avons distingué : 36 % (douleurs au niveau du dos), 40 % (allergie cutanée et fatigue générale), 16 % (nausées, irritations nasales et oculaires), 56 % (maux de tête), 20 % (troubles psychiques) chez les agriculteurs.

1.4. La relation entre l'état de santé et pollution industrielle d'El-Karma (Annaba)

Le présent passage vise à vérifier l'hypothèse formulée en introduction, qui consiste à définir la relation entre l'état de santé des populations et la pollution industrielle d'El-Karma à Annaba. Pour y parvenir, il conviendra d'établir des corrélations en utilisant des courbes qui représentent la fréquence des maladies déclarées par les personnes interrogées en fonction de plusieurs facteurs de risques. Étant donné que cette étude porte principalement sur la pollution des sols par les métaux lourds provenant des activités industrielles, les principaux aspects à

prendre en compte étant la durée d'exposition, la consommation des cultures maraîchères et de l'eau de puits disponibles dans la région polluée.

En se basant sur la méthode de l'institut national de la santé et de la recherche médicale « INSERM, 1992 » (Bouyer et *al.*, 2009), l'évolution des prévalences est analysée séparément entre les agriculteurs et les résidents vivant à proximité de la zone d'étude et mesurée selon la formule de calcul mathématique suivante :

$$\text{La prévalence} = \frac{\text{Nombre de cas}}{\text{Population}} \times 100$$

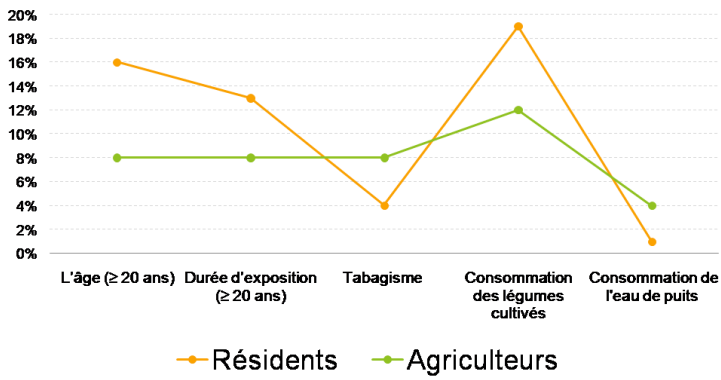
La figure suivante regroupe sept graphiques caractérisant l'influence de plusieurs variables sur les pathologies. On note d'abord une croissance des prévalences en fonction d'âge, de la durée d'exposition, du tabagisme, de la consommation de légumes cultivés dans les sols pollués et de l'ingestion d'eau de puits. Cette augmentation est plus élevée chez les agriculteurs en comparaison avec les résidents.

L'analyse des données de cette enquête indique que la consommation de cultures provenant de sols contaminés s'accompagne d'une élévation modérée de l'incidence de certaines maladies telles que l'arthrose et l'asthme chez les résidents. En revanche, cette différence n'était pas significative chez les agriculteurs. On peut déduire du test du Khi-carré que la consommation accrue de légumes cultivés sur le site implique un plus grand nombre de malades.

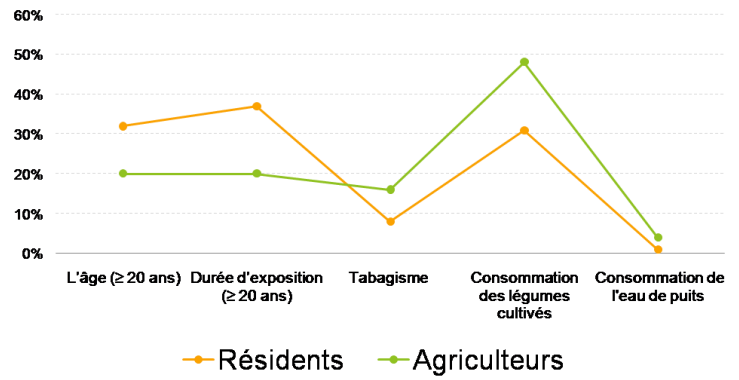
Parallèlement, le test de Pearson a révélé une corrélation statistiquement significative entre la durée d'exposition et la prévalence de ces pathologies, ce qui signifie que les personnes exposées depuis une plus longue durée ont tendance à être plus affectées. Cette relation semble forte et fiable et apparaît chez les deux scénarios. Quant à la contamination par la consommation de légumes et d'eau polluée, celle-ci constitue une troisième variable causale qui conditionne les deux autres indicateurs, sans pour autant créer une relation de cause à effet.

Selon les tracés de courbes, on estime alors que la **durée de travail et de résidence** des individus à proximité des sources polluantes, les **habitudes alimentaires** sont des **facteurs de risque majeurs** d'arthrose, d'asthme, du cancer, du diabète, de pression artérielle, d'AVC et de maladies neurodégénératives.

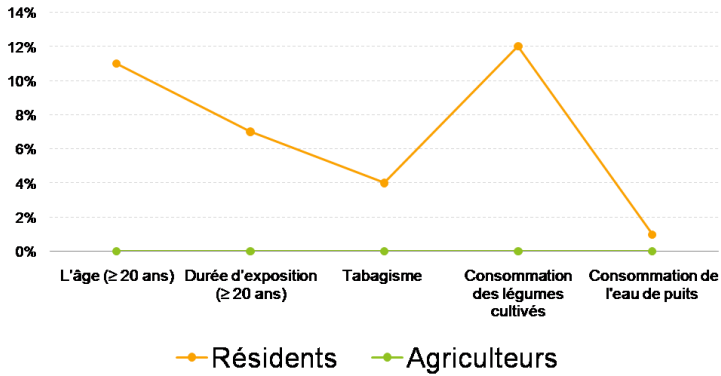
Prévalence de l'arthrose



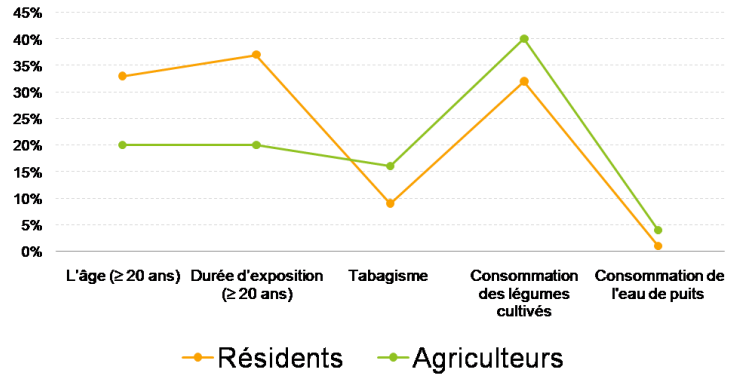
Prévalence du diabète



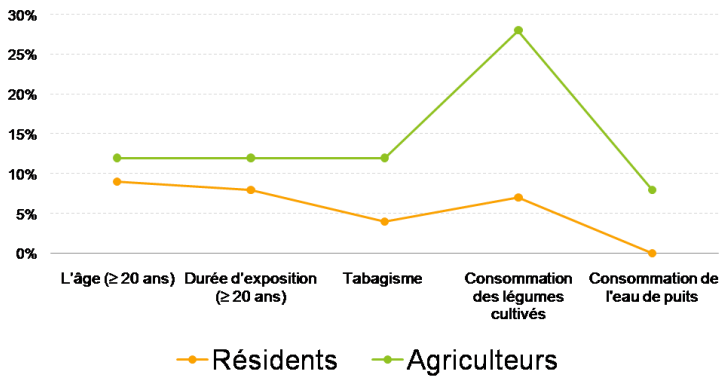
Prévalence de l'asthme



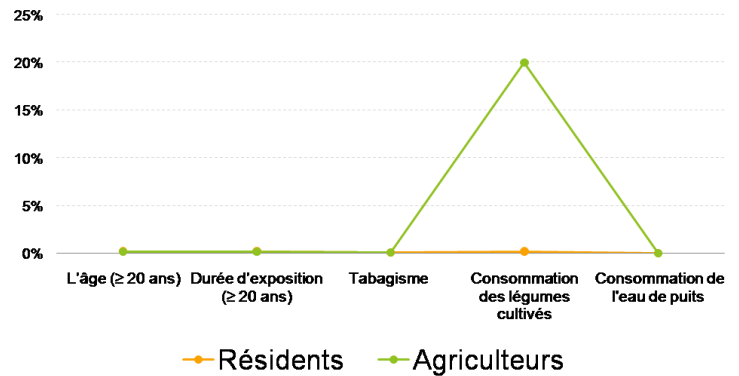
Prévalence de l'HTA



Prévalence du cancer



Prévalence de l'AVC



Prévalence des maladies neurodégénératives

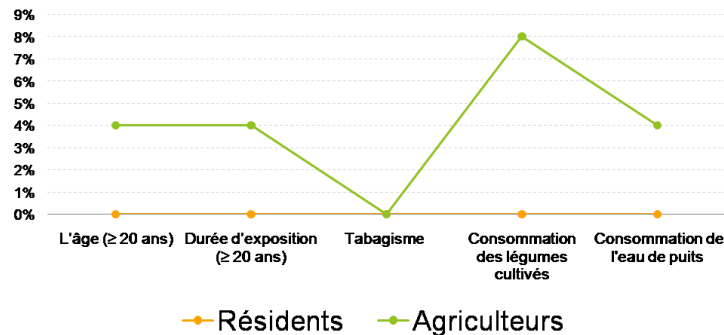


Figure 59: Prévalence des pathologies enregistrées par rapport aux sous-échantillons étudiés.

2. Evaluation du risque toxicologique

2.1. Estimation de l'exposition

2.1.1. Estimation de l'exposition pour le scénario 1

Les tableaux ci-dessous illustrent les valeurs des expositions enregistrées pour les travailleurs opérant sur les sites contaminés durant l'année 2019 et 2021 en fonction des voies d'exposition.

Tableau 32: Estimation de l'exposition à des métaux par inhalation de poussières de sol chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.

Métaux	Expositions par inhalation de particules de sol (mg/kg/j)							
	L'année 2019				L'année 2021			
	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
Cd	43	25	25	32	36	14	11	29
Cr	616	392	385	367	403	382	360	353
Cu	137	115	108	101	68	43	40	36
Fe	111012	80983	74610	71946	22010	19065	21535	34637
Mn	3997	2848	2376	2657	3676	1890	1181	1620
Ni	166	126	115	112	58	36	32	29
Pb	72	43	54	58	72	58	61	90
Zn	241	191	166	173	299	216	130	180

Tableau 33: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion de sol chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.

Métaux	Expositions par ingestion de sol (mg/kg/j)							
	L'année 2019				L'année 2021			
	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
Cd	11	6	6	8	9	4	3	7

Cr	156	99	98	93	102	97	91	89
Cu	35	29	27	26	17	11	10	9
Fe	28104	20502	18889	18214	5572	4827	5452	8769
Mn	1012	721	602	673	931	479	299	410
Ni	42	32	29	28	15	9	8	7
Pb	18	11	14	15	18	15	16	23
Zn	61	48	42	44	76	55	33	46

Tableau 34: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion d'eau potable chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.

Métaux	Expositions par ingestion d'eau potable (mg/kg/j)			
	L'année 2019		L'année 2021	
	Eau de puits	Eau du canal	Eau de puits	Eau du canal
Cd	- 0,01	- 0,07	- 0,01	- 0,12
Cr	0,15	0,06	0,17	0,06
Cu	0,22	0,25	0,25	0,28
Fe	1,13	0,49	0,78	0,58
Mn	0,11	0,13	0,13	0,15
Ni	0,14	0,03	0,11	0,01
Pb	- 0,43	- 1,23	- 0,35	- 1,07
Zn	32,76	42,47	32,01	39,65

Tableau 35: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion des aliments chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.

Métaux	Expositions par ingestion de divers aliments (mg/kg/j)							
	L'année 2019				L'année 2021			
	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
Cd	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00
Cr	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,02	- 0,00	- 0,02	- 0,02	- 0,03
Cu	0,02	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	- 0,00
Fe	1,57	0,26	0,57	0,03	1,17	0,27	0,86	0,06
Mn	0,39	0,02	0,22	0,01	0,39	0,03	0,35	0,01
Ni	- 0,01	- 0,02	- 0,02	- 0,02	- 0,00	- 0,01	- 0,02	- 0,02
Pb	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,02

Zn	- 1,52	- 1,39	- 2,88	- 2,78	- 1,49	- 1,57	-	-
-----------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	---	---

Tableau 36: Estimation de l'exposition à des métaux par contact cutané avec le sol chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.

Métaux	Expositions par contact cutané avec le sol (mg/kg/j)							
	L'année 2019				L'année 2021			
	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
Cd	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cr	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cu	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Fe	0,35	0,25	0,23	0,22	0,07	0,06	0,07	0,11
Mn	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01
Ni	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pb	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Zn	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

2.1.2. Estimation de l'exposition pour le scénario 2

Les tableaux suivants contiennent les doses d'exposition estimées pour les cinq voies d'exposition, préalablement définies, chez les résidents vivant à proximité du site durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.

Tableau 37: Estimation de l'exposition à des métaux par inhalation de poussières de sol chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Expositions par inhalation de particules de sol (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	201	118	118	151	168	67	50	134
	Cr	2871	1830	1797	1713	1881	1780	1679	1646
	Cu	638	537	504	470	319	201	185	168

	Fe	51770 1	37766 4	34794 4	33551 9	10264 4	8890 9	10042 7	16153 0
	Mn	18638	13282	11082	12392	17144	8815	5507	7556
	Ni	772	588	537	521	269	168	151	134
	Pb	336	201	252	269	336	269	285	420
	Zn	1125	890	772	806	1394	1007	604	840
0,5 à < 5	Cd	187	109	109	140	156	62	47	125
	Cr	2668	1701	1670	1592	1748	1654	1560	1529
	Cu	593	499	468	437	296	187	172	156
	Fe	48110 3	35096 6	32334 7	31180 0	95387	8262 3	93328	15011 1
	Mn	17320	12343	10299	11516	15932	8192	5118	7022
5 à < 12	Ni	718	546	499	484	250	156	140	125
	Pb	312	187	234	250	312	250	265	390
	Zn	1045	827	718	749	1295	936	562	780
	Cd	143	83	83	107	119	48	36	95
	Cr	2039	1300	1276	1216	1336	1264	1192	1169
12 à < 20	Cu	453	382	358	334	227	143	131	119
	Fe	36765 1	26820 2	24709 6	23827 2	72894	6313 9	71319	11471 2
	Mn	13236	9432	7870	8800	12175	6260	3911	5366
	Ni	549	417	382	370	191	119	107	95
	Pb	238	143	179	191	238	191	203	298
≥ 20	Zn	799	632	549	572	990	715	429	596
	Cd	78	45	45	58	65	26	19	52
	Cr	1105	705	692	659	724	685	646	634
	Cu	246	207	194	181	123	78	71	65
	Fe	19932 3	14540 7	13396 4	12918 0	39519	3423 1	38666	62191
≥ 20	Mn	7176	5114	4267	4771	6601	3394	2120	2909
	Ni	297	226	207	200	103	65	58	52
	Pb	129	78	97	103	129	103	110	162
	Zn	433	343	297	310	537	388	233	323
	Cd	64	37	37	48	53	21	16	42
	Cr	905	577	567	540	593	561	529	519
	Cu	201	169	159	148	101	64	58	53
	Fe	16325 3	11909 3	10972 1	10580 3	32368	2803 7	31669	50937
Mn	5877	4188	3495	3908	5406	2780	1737	2383	
Ni	244	185	169	164	85	53	48	42	
Pb	106	64	79	85	106	85	90	132	
Zn	355	281	244	254	439	318	191	265	

Tableau 38: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion de sol chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Expositions par ingestion de sol (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	36	21	21	27	30	12	9	24
	Cr	510	325	319	304	334	316	299	293
	Cu	113	96	90	84	57	36	33	30
	Fe	92036	67140	61857	59648	18248	15806	17854	28716
	Mn	3313	2361	1970	2203	3048	1567	979	1343
	Ni	137	104	96	93	48	30	27	24
	Pb	60	36	45	48	60	48	51	75
	Zn	200	158	137	143	248	179	107	149
0,5 à < 5	Cd	121	70	70	91	101	40	30	81
	Cr	1721	1097	1077	1027	1128	1067	1007	987
	Cu	383	322	302	282	191	121	111	101
	Fe	310389	226430	208611	201161	61540	53305	60211	96846
	Mn	11175	7963	6644	7430	10279	5285	3302	4530
	Ni	463	352	322	312	161	101	91	81
	Pb	201	121	151	161	201	161	171	252
	Zn	675	534	463	483	836	604	362	503
5 à < 12	Cd	14	8	8	10	12	5	3	9
	Cr	197	125	123	117	129	122	115	113
	Cu	44	37	35	32	22	14	13	12
	Fe	35497	25895	23858	23006	7038	6096	6886	11076
	Mn	1278	911	760	850	1175	604	378	518
	Ni	53	40	37	36	18	12	10	9
	Pb	23	14	17	18	23	18	20	29
	Zn	77	61	53	55	96	69	41	58
12 à < 20	Cd	4	2	2	3	3	1	1	3
	Cr	56	36	35	33	37	35	33	32
	Cu	12	10	10	9	6	4	4	3
	Fe	10092	7362	6783	6541	2001	1733	1958	3149
	Mn	363	259	216	242	334	172	107	147
	Ni	15	11	10	10	5	3	3	3
	Pb	7	4	5	5	7	5	6	8
	Zn	22	17	15	16	27	20	12	16
≥ 20	Cd	3	2	2	2	3	1	1	2
	Cr	46	29	29	27	30	28	27	26
	Cu	10	9	8	8	5	3	3	3

Fe	8266	6030	5556	5357	1639	1420	1603	2579
Mn	298	212	177	198	274	141	88	121
Ni	12	9	9	8	4	3	2	2
Pb	5	3	4	4	5	4	5	7
Zn	18	14	12	13	22	16	10	13

Tableau 39: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion d'eau potable chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Expositions par ingestion d'eau potable (mg/kg/j)			
		L'année 2019		L'année 2021	
		Eau de puits	Eau du canal	Eau de puits	Eau du canal
< 0,5	Cd	- 0,03	- 0,40	- 0,04	- 0,64
	Cr	0,86	0,31	0,93	0,31
	Cu	1,24	1,40	1,40	1,56
	Fe	6,30	2,72	4,35	3,27
	Mn	0,62	0,70	0,70	0,86
	Ni	0,78	0,16	0,62	0,08
	Pb	- 2,42	- 6,87	- 1,97	- 5,98
	Zn	182,89	237,09	178,70	221,39
0,5 à < 5	Cd	- 0,02	- 0,25	- 0,03	- 0,40
	Cr	0,54	0,20	0,59	0,20
	Cu	0,78	0,88	0,88	0,98
	Fe	3,96	1,71	2,74	2,05
	Mn	0,39	0,44	0,44	0,54
	Ni	0,49	0,10	0,39	0,05
	Pb	- 1,52	- 4,32	- 1,24	- 3,75
	Zn	114,92	148,97	112,28	139,10
5 à < 12	Cd	- 0,01	- 0,17	- 0,02	- 0,27
	Cr	0,36	0,13	0,39	0,13
	Cu	0,52	0,58	0,58	0,65
	Fe	2,62	1,13	1,81	1,36
	Mn	0,26	0,29	0,29	0,36
	Ni	0,32	0,06	0,26	0,03
	Pb	- 1,01	- 2,86	- 0,82	- 2,49
	Zn	76,21	98,79	74,46	92,25
12 à < 20	Cd	- 0,01	- 0,10	- 0,01	- 0,17
	Cr	0,22	0,08	0,24	0,08
	Cu	0,32	0,36	0,36	0,40
	Fe	1,63	0,71	1,13	0,85

≥ 20	Mn	0,16	0,18	0,18	0,22
	Ni	0,20	0,04	0,16	0,02
	Pb	- 0,63	- 1,78	- 0,51	- 1,55
	Zn	47,42	61,48	46,34	57,41
	Cd	- 0,01	- 0,10	- 0,01	- 0,17
	Cr	0,23	0,08	0,25	0,08
	Cu	0,33	0,37	0,37	0,41
	Fe	1,66	0,72	1,15	0,86
	Mn	0,16	0,18	0,18	0,23
	Ni	0,20	0,04	0,16	0,02
	Pb	- 0,64	- 1,81	- 0,52	- 1,57
	Zn	48,18	62,45	47,07	58,31

Tableau 40: Estimation de l'exposition à des métaux par ingestion des aliments chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Expositions par ingestion de divers aliments (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	- 0,01	- 0,01	- 0,02	- 0,02	- 0,00	- 0,00	- 0,01	- 0,01
	Cr	- 0,02	- 0,11	- 0,13	- 0,15	- 0,01	- 0,05	- 0,07	- 0,07
	Cu	0,07	0,01	0,02	0,01	0,05	0,01	0,00	- 0,00
	Fe	4,63	1,86	4,88	0,30	3,44	0,79	2,54	0,19
	Mn	1,16	0,15	1,92	0,09	1,15	0,10	1,03	0,04
	Ni	- 0,02	- 0,11	- 0,15	- 0,15	- 0,00	- 0,04	- 0,06	- 0,07
	Pb	- 0,02	- 0,04	- 0,09	- 0,11	- 0,00	- 0,01	- 0,00	- 0,04
	Zn	- 4,50	10,06	24,76	23,92	- 4,38	- 4,64	-	-
0,5 à < 5	Cd	- 0,01	- 0,00	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,02	- 0,02
	Cr	- 0,03	- 0,06	- 0,05	- 0,06	- 0,03	- 0,09	- 0,13	- 0,14
	Cu	0,14	0,01	0,01	0,00	0,10	0,02	0,01	- 0,01
	Fe	8,75	1,06	2,04	0,13	6,51	1,49	4,79	0,36
	Mn	2,19	0,08	0,80	0,04	2,16	0,18	1,95	0,08
	Ni	- 0,04	- 0,06	- 0,06	- 0,06	- 0,00	- 0,08	- 0,11	- 0,13
	Pb	- 0,03	- 0,02	- 0,04	- 0,05	- 0,00	- 0,01	- 0,01	- 0,08
	Zn	- 8,49	- 5,72	10,36	10,01	- 8,28	- 8,76	-	-
5 à < 12	Cd	- 0,01	- 0,00	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,00	- 0,01	- 0,01
	Cr	- 0,03	- 0,05	- 0,04	- 0,04	- 0,02	- 0,07	- 0,10	- 0,11
	Cu	0,10	0,01	0,01	0,00	0,08	0,02	0,00	- 0,00

12 à < 20	Fe	6,76	0,79	1,46	0,09	5,03	1,15	3,70	0,28
	Mn	1,69	0,06	0,58	0,03	1,67	0,14	1,51	0,06
	Ni	- 0,03	- 0,05	- 0,04	- 0,05	- 0,00	- 0,06	- 0,08	- 0,10
	Pb	- 0,02	- 0,02	- 0,03	- 0,03	- 0,00	- 0,01	- 0,01	- 0,06
	Zn	- 6,56	- 4,30	- 7,43	- 7,18	- 6,40	- 6,77	-	-
	Cd	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,01	- 0,01
	Cr	- 0,01	- 0,03	- 0,02	- 0,03	- 0,01	- 0,04	- 0,05	- 0,06
	Cu	0,06	0,00	0,00	0,00	0,04	0,01	0,00	- 0,00
	Fe	3,58	0,56	0,89	0,05	2,66	0,61	1,96	0,15
	Mn	0,90	0,04	0,35	0,02	0,89	0,07	0,80	0,03
≥ 20	Ni	- 0,02	- 0,03	- 0,03	- 0,03	- 0,00	- 0,03	- 0,04	- 0,05
	Pb	- 0,01	- 0,01	- 0,02	- 0,02	- 0,00	- 0,01	- 0,00	- 0,03
	Zn	- 3,48	- 3,02	- 4,53	- 4,37	- 3,39	- 3,59	-	-
	Cd	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00
	Cr	- 0,01	- 0,02	- 0,02	- 0,03	- 0,01	- 0,02	- 0,03	- 0,04
	Cu	0,04	0,00	0,00	0,00	0,03	0,01	0,00	- 0,00
	Fe	2,31	0,38	0,83	0,05	1,72	0,39	1,26	0,10
	Mn	0,58	0,03	0,33	0,01	0,57	0,05	0,51	0,02
Ni	- 0,01	- 0,02	- 0,02	- 0,03	- 0,00	- 0,02	- 0,03	- 0,04	
Pb	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,02	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,02	
Zn	- 2,24	- 2,05	- 4,23	- 4,09	- 2,18	- 2,31	-	-	

Tableau 41: Estimation de l'exposition à des métaux par contact cutané avec le sol chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021 en fonction des classes d'âge.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Expositions par contact cutané avec le sol (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cr	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cu	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	-	-	-	-	-	-	-	-
	Zn	-	-	-	-	-	-	-	-
0,5 à < 5	Cd	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Cr	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Cu	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Fe	2,54	1,85	1,71	1,64	0,50	0,44	0,49	0,79

5 à < 12	Mn	0,09	0,07	0,05	0,06	0,08	0,04	0,03	0,04
	Ni	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Zn	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
	Cd	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Cr	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Cu	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Fe	2,06	1,50	1,38	1,33	0,41	0,35	0,40	0,64
	Mn	0,07	0,05	0,04	0,05	0,07	0,04	0,02	0,03
	Ni	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12 à < 20	Pb	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Zn	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
	Cd	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Cr	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Cu	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Fe	0,55	0,40	0,37	0,35	0,11	0,09	0,11	0,17
	Mn	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
	Ni	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Zn	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
≥ 20	Cd	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Cr	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Cu	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Fe	0,51	0,37	0,34	0,33	0,10	0,09	0,10	0,16
	Mn	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
	Ni	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Zn	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

2.2. Estimation de risques toxicologiques

2.2.1. Risques toxicologiques non cancérogènes

Les résultats présentés dans les tableaux suivants montrent le risque potentiel lié à l'exposition aux métaux par inhalation de particules de sol, par ingestion de sol, d'eau potable et de divers aliments pour la population générale durant les deux périodes d'exposition (2019 et 2021). Les cases en gris indiquent l'existence d'un risque formel.

Tableau 42: Risques toxicologiques non cancérogènes de métaux par inhalation de poussières de sol chez la population générale.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Risque par inhalation de poussières de sol chez la population générale (mg/kg/j)
----------------------	--------	--

		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	35349568	20620581	20620581	26512176	-	-	-	-
	Cr	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cu	924724	778715	730045	681376	-	-	-	-
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	20847941 50	14856506 06	12396073 32	13861063 81	-	-	-	-
	Ni	13550667 7	10310290 7	94265515	91319717	-	-	-	-
	Pb	33582089 6	20149253 7	25186567 2	26865671 6	-	-	-	-
	Zn	112500	88993	77239	80597	-	-	-	-
0,5 à < 5	Cd	32850583	19162840	19162840	24637937	17	10	10	13
	Cr	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cu	859352	723665	678436	633207	5	4	4	3
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	19374127 29	13806247 47	11519751 36	12881176 52	1021 6	728 0	607 5	679 2
	Ni	12592723 4	95814200	87601554	84864006	664	505	462	448
	Pb	31208053 7	18724832 2	23406040 3	24966443 0	1646	987	123 4	131 7
	Zn	104547	82701	71779	74899	1	0	0	0
5 à < 12	Cd	25103878	14643929	14643929	18827909	14	8	8	11
	Cr	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cu	656703	553013	518450	483886	4	3	3	3
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	14805391 20	10550508 51	88032055 8	98435844 2	8283	590 2	492 5	550 7
	Ni	96231533	73219645	66943675	64851685	538	410	375	363
	Pb	23848684 2	14309210 5	17886513 2	19078947 4	1334	801	100 1	106 7
	Zn	79893	63199	54852	57237	0	0	0	0
12 à < 20	Cd	13610130	7939243	7939243	10207598	4	2	2	3
	Cr	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cu	356033	299817	281079	262340	1	1	1	1
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	80267797 3	57199844 8	47726798 4	53367238 2	2201	156 8	130 8	146 3
	Ni	52172165	39696213	36293680	35159503	143	109	100	96
	Pb	12929623 6	77577741	96972177	10343698 9	354	213	266	284
	Zn	43314	34264	29738	31031	0	0	0	0

≥ 20	Cd	11147171	6502516	6502516	8360378	3	2	2	3
	Cr	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cu	291604	245561	230213	214866	1	1	1	1
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	65742123 5	46848666 4	39089911 3	43709628 1	2055	146 5	122 2	136 6
	Ni	42730822	32512582	29725789	28796858	134	102	93	90
	Pb	10589812 3	63538874	79423592	84718499	331	199	248	265
	Zn	35476	28063	24357	25416	0	0	0	0
Travailleurs (≥ 20)	Cd	7580076	4421711	4421711	5685057	2	1	1	2
	Cr	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cu	198290	166981	156545	146109	1	1	0	0
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	44704644 0	31857093 2	26581139 7	29722547 1	1398	996	831	929
	Ni	29056959	22108556	20213537	19581864	91	69	63	61
	Pb	72010724	43206434	54008043	57608579	225	135	169	180
	Zn	24124	19083	16562	17283	0	0	0	0

Le tableau (42) montre l'existence de risques formels (valeurs ombragées) pour les habitants de tous groupes d'âge et pour les agriculteurs exposés par inhalation aux métaux pertinents au cours de l'année 2019. Le risque le plus élevé est celui lié à l'exposition par inhalation au manganèse, suivi du nickel et du plomb.

En ce qui concerne l'année 2021, il n'y a pas de risque formel pour les nourrissons. Aussi, les quotients de risque ne dépassent pas la valeur de 1,0 pour l'inhalation de zinc chez tous les individus et pour l'inhalation de cuivre chez les personnes âgées de 12 ans à moins de 20 ans, les résidents adultes et les travailleurs en extérieur. Cela signifie que l'inhalation de cuivre et de zinc ne présente aucun risque non cancérigène évident pour ces derniers.

Tableau 43: Risques toxicologiques non cancérigènes de métaux par ingestion de sol chez la population générale.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Risque par ingestion de sol chez la population générale (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	35821	20896	20896	26866	16791 0	67164	50373	13432 8
	Cr	102	65	64	61	376	356	336	329

	Cu	1134	955	896	836	3190	2015	1847	1679
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	66268 7	47223 9	39403 0	44059 7	34287 31	17630 60	11014 93	15111 94
	Ni	6866	5224	4776	4627	13433	8396	7556	6716
	Pb	16723	10034	12542	13378	94067	75254	79957	11758 4
	Zn	200	158	137	143	1394	1007	604	840
0,5 à < 5	Cd	12080 5	70470	70470	90604	15604 0	62416	46812	12483 2
	Cr	344	219	215	205	350	331	312	306
	Cu	3826	3221	3020	2819	2965	1872	1716	1560
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	22348 99	15926 17	13288 59	14859 06	31863 42	16384 23	10236 24	14043 62
	Ni	23154	17617	16107	15604	12483	7802	7022	6242
	Pb	56398	33839	42299	45119	87418	69934	74305	10927 2
	Zn	675	534	463	483	1295	936	562	780
5 à < 12	Cd	13816	8059	8059	10362	11924 3	47697	35773	95395
	Cr	39	25	25	23	267	253	238	234
	Cu	438	368	345	322	2266	1431	1312	1192
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	25559 2	18213 8	15197 4	16993 4	24349 51	12520 56	78223 7	10731 91
	Ni	2648	2015	1842	1785	9539	5962	5366	4770
	Pb	6450	3870	4837	5160	66803	53442	56783	83504
	Zn	77	61	53	55	990	715	429	596
12 à < 20	Cd	3928	2291	2291	2946	64648	25859	19394	51718
	Cr	11	7	7	7	145	137	129	127
	Cu	124	105	98	92	1228	776	711	646
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	72668	51784	43208	48314	13201 15	67880 5	42409 2	58183 3
	Ni	753	573	524	507	5172	3232	2909	2586
	Pb	1834	1100	1375	1467	36217	28974	30785	45272
	Zn	22	17	15	16	537	388	233	323
≥ 20	Cd	3217	1877	1877	2413	52949	21180	15885	42359
	Cr	9	6	6	5	119	112	106	104
	Cu	102	86	80	75	1006	635	582	529
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	59517	42413	35389	39571	10812 20	55596 5	34734 6	47654 2
	Ni	617	469	429	416	4236	2647	2383	2118
	Pb	1502	901	1126	1202	29663	23731	25214	37079
	Zn	18	14	12	13	439	318	191	265
Travailleurs (≥ 20)	Cd	10938	6381	6381	8204	36005	14402	10802	28804
	Cr	31	20	20	19	81	76	72	71

Cu	346	292	273	255	684	432	396	360
Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
Mn	20235 9	14420 4	12032 2	13454 2	73522 9	37805 6	23619 5	32404 8
Ni	2097	1595	1458	1413	2880	1800	1620	1440
Pb	5107	3064	3830	4085	20171	16137	17145	25214
Zn	61	48	42	44	299	216	130	180

Le tableau (43) présente le risque d'exposition par ingestion de cadmium, chrome, cuivre, manganèse, nickel, plomb et zinc dans le sol. Les colonnes grises indiquent la présence d'un risque formel pour les résidents et les agriculteurs. Les risques par ingestion de sol sont plus ou moins élevés pour l'année 2019 par rapport à l'année 2021, à l'exception du chrome qui représente le cas contraire.

Tableau 44: Risques toxicologiques non cancérogènes de métaux par ingestion d'eau potable chez la population générale.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Risque par ingestion d'eau potable chez la population générale (mg/kg/j)			
		L'année 2019		L'année 2019	
		Eau de puits	Eau canal du	Eau de puits	Eau canal du
< 0,5	Cd	- 30,33	- 398,14	29850,75	11940,30
	Cr	0,17	0,06	66,87	63,28
	Cu	12,44	14,00	567,16	358,21
	Fe	-	-	-	-
	Mn	124,42	139,97	609552,24	313432,84
	Ni	38,88	7,78	2388,06	1492,54
	Pb	- 677,63	- 1924,86	16723,11	13378,49
	Zn	182,89	237,09	247,76	179,10
0,5 à < 5	Cd	- 19,06	- 250,16	100671,14	40268,46
	Cr	0,11	0,04	225,50	213,42
	Cu	7,82	8,79	1912,75	1208,05
	Fe	-	-	-	-
	Mn	78,17	87,95	2055704,70	1057046,98
	Ni	24,43	4,89	8053,69	5033,56
	Pb	- 425,77	- 1209,43	56398,40	45118,72
	Zn	114,92	148,97	835,57	604,03
5 à < 12	Cd	- 12,64	- 165,89	11513,16	4605,26
	Cr	0,07	0,03	25,79	24,41
	Cu	5,18	5,83	218,75	138,16
	Fe	-	-	-	-

12 à < 20	Mn	51,84	58,32	235098,68	120888,16
	Ni	16,20	3,24	921,05	575,66
	Pb	- 282,35	- 802,05	6449,95	5159,96
	Zn	76,21	98,79	95,56	69,08
	Cd	- 7,86	- 103,24	3273,32	1309,33
	Cr	0,04	0,02	7,33	6,94
	Cu	3,23	3,63	62,19	39,28
	Fe	-	-	-	-
	Mn	32,26	36,29	66841,24	34369,89
	Ni	10,08	2,02	261,87	163,67
≥ 20	Pb	- 175,71	- 499,12	1 33,79	1467,04
	Zn	47,42	61,48	27,17	19,64
	Cd	- 7,99	- 104,87	2680,97	1072,39
	Cr	0,05	0,02	6,01	5,68
	Cu	3,28	3,69	50,94	32,17
	Fe	-	-	-	-
	Mn	32,77	36,87	54745,31	28150,13
	Ni	10,24	2,05	214,48	134,05
	Pb	- 178,49	- 507,02	1501,94	1201,55
	Zn	48,18	62,45	22,25	16,09
Travailleurs (≥ 20)	Cd	- 5,43	- 71,31	9115,28	3646,11
	Cr	0,03	0,01	20,42	19,32
	Cu	2,23	2,51	173,19	109,38
	Fe	-	-	-	-
	Mn	22,29	25,07	186134,05	95710,46
	Ni	6,96	1,39	729,22	455,76
	Pb	- 121,37	- 344,77	5106,60	4085,28
	Zn	32,76	42,47	75,66	54,69

Le tableau (44) illustre le risque d'exposition par ingestion d'eau de puits et de canal pour les résidents et les travailleurs dans la zone d'étude. Une menace officielle a été contactée suite à l'ingestion des métaux préoccupants dans l'eau potable pour la période 2019 et 2021. Il convient de noter qu'aucun risque n'a été calculé pour le cadmium, le chrome et le plomb dans les deux sources d'eau souterraine en 2019. La probabilité de présenter un risque non cancérigène lié à l'ingestion de chrome dans l'eau en 2019 reste minime comparée à celui ingéré en 2021.

Tableau 45: Risques toxicologiques non cancérogènes de métaux par ingestion de divers aliments chez la population générale.

Classes d'âges (ans)	Métal x	Risque par ingestion de divers aliments chez la population générale (mg/kg/j)	
		L'année 2019	L'année 2021

		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	- 6,21	- 8,42	- 21,06	- 22,46	8955,22	23880,60	- 43,55	- 643,09
	Cr	- 0,00	- 0,02	- 0,03	- 0,03	59,70	58,51	0,19	0,06
	Cu	0,72	0,12	0,17	0,07	328,36	298,51	14,00	15,55
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	231,64	29,73	384,72	17,19	195820,90	268656,72	139,97	171,07
	Ni	- 1,14	- 5,51	- 7,25	- 7,73	1343,28	1194,03	31,10	3,89
	Pb	- 4,23	- 10,20	- 23,96	- 30,70	14214,64	20903,88	- 551,08	- 1673,93
	Zn	- 4,50	- 10,06	- 24,76	- 23,92	107,46	149,25	178,70	221,39
0,5 à < 5	Cd	- 11,73	- 4,79	- 8,81	- 9,40	30201,34	80536,91	- 27,36	- 404,06
	Cr	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,01	201,34	197,32	0,12	0,04
	Cu	1,35	0,07	0,07	0,03	1107,38	1006,71	8,79	9,77
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	437,48	16,91	160,98	7,19	660402,68	906040,27	87,95	107,49
	Ni	- 2,16	- 3,14	- 3,04	- 3,23	4530,20	4026,85	19,54	2,44
	Pb	- 7,99	- 5,80	- 10,03	- 12,85	47938,64	70498,00	- 346,26	- 1051,77
	Zn	- 8,49	- 5,72	- 10,36	- 10,01	362,42	503,36	112,28	139,10
5 à < 12	Cd	- 9,07	- 3,60	- 6,32	- 6,74	3453,95	9210,53	- 18,14	- 267,96
	Cr	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,01	23,03	22,57	0,08	0,03
	Cu	1,05	0,05	0,05	0,02	126,64	115,13	5,83	6,48
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	338,22	12,71	115,41	5,16	75526,32	103618,42	58,32	71,28
	Ni	- 1,67	- 2,36	- 2,18	- 2,32	518,09	460,53	12,96	1,62
	Pb	- 6,18	- 4,36	- 7,19	- 9,21	5482,46	8062,44	- 229,62	- 697,49

	Zn	- 6,56	- 4,30	- 7,43	- 7,18	41,45	57,57	74,46	92,25
12 à < 20	Cd	- 4,80	- 2,53	- 3,85	- 4,10	982,00	2618,66	- 11,29	- 166,75
	Cr	- 0,00	- 0,01	- 0,00	- 0,01	6,55	6,42	0,05	0,02
	Cu	0,55	0,04	0,03	0,01	36,01	32,73	3,63	4,03
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	179,08	8,92	70,31	3,14	21 473,00	29 459,90	36,29	44,36
	Ni	- 0,88	- 1,65	- 1,33	- 1,41	147,30	130,93	8,07	1,01
	Pb	- 3,27	- 3,06	- 4,38	- 5,61	1558,72	2292,24	- 142,90	- 434,06
	Zn	- 3,48	- 3,02	- 4,53	- 4,37	11,78	16,37	46,34	57,41
	≥ 20	Cd	- 3,09	- 1,71	- 3,60	- 3,84	804,29	2144,77	- 11,47
Cr		- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,01	5,36	5,25	0,05	0,02
Cu		0,36	0,03	0,03	0,01	29,49	26,81	3,69	4,10
Fe		-	-	-	-	-	-	-	-
Mn		115,46	6,05	65,75	2,94	17587,13	24128,69	36,87	45,06
Ni		- 0,57	- 1,12	- 1,24	- 1,32	120,64	107,24	8,19	1,02
Pb		- 2,11	- 2,08	- 4,09	- 5,25	1276,65	1877,43	- 145,16	- 440,92
Zn		- 2,24	- 2,05	- 4,23	- 4,09	9,65	13,40	47,07	58,31
Travailleurs (≥ 20)	Cd	- 2,10	- 1,17	- 2,45	- 2,61	2734,58	7292,23	- 7,80	- 115,19
	Cr	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	18,23	17,87	0,03	0,01
	Cu	0,24	0,02	0,02	0,01	100,27	91,15	2,51	2,79
	Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	78,52	4,11	44,71	2,00	59796,25	82037,53	25,07	30,64
	Ni	- 0,39	- 0,76	- 0,84	- 0,90	410,19	364,61	5,57	0,70
	Pb	- 1,43	- 1,41	- 2,78	- 3,57	4340,61	6383,25	- 98,71	- 299,83
	Zn	- 1,52	- 1,39	- 2,88	- 2,78	32,82	45,58	32,01	39,65

Le tableau (45) met en évidence les risques de toxicité non cancérogènes dus à l'ingestion de cultures provenant des quatre sols contaminés au cours des deux ans de

prélèvement. On constate généralement que les sujets consommant les aliments cultivés en 2021 sont les groupes qui semblent être plus à risque que ceux ingérant ces récoltes en 2019.

Pour la population générale, en 2019, l'indice de risque par ingestion de manganèse dans le blé, les pommes de terre, les légumineuses prélevées dans les sols S1, S2, S3 et S4, respectivement, est supérieur à 1. Le risque du cuivre administré par ingestion a été détecté uniquement chez les enfants de moins de 5 ans soumis à une exposition orale au blé dur.

Au cours de l'année 2021, les expositions au nickel et au plomb par le blé dur des sols S1 et S2 sont susceptibles d'entraîner un risque formel pour la santé des résidents. À ceux-ci s'ajoutent les concentrations du nickel auxquelles les travailleurs sont exposés par la consommation de blé tendre cultivé dans le sol S3.

2.2.2. Calcul des doses d'exposition

Tableau 46: Doses moyennes d'exposition par inhalation de poussières de sol à vie chez les deux scénarios pour l'année 2019 et 2021.

Classes d'âges (ans)	Mét aux	Dose moyenne d'exposition par inhalation de poussières de sol chez la population générale (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	1,54	0,90	0,90	1,15	-	-	-	-
	Ni	5,90	4,49	4,10	3,97	-	-	-	-
	Pb	2,56	1,54	1,92	2,05	-	-	-	-
0,5 à < 5	Cd	12,86	7,50	7,50	9,65	0,00	0,00	0,00	0,00
	Ni	49,31	37,52	34,31	33,23	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	21,44	12,86	16,08	17,15	0,00	0,00	0,00	0,00
5 à < 12	Cd	15,29	8,92	8,92	11,47	0,00	0,00	0,00	0,00
	Ni	58,62	44,60	40,78	39,51	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	25,49	15,29	19,12	20,39	0,00	0,00	0,00	0,00
12 à < 20	Cd	9,48	5,53	5,53	7,11	0,00	0,00	0,00	0,00
	Ni	36,32	27,64	25,27	24,48	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	15,79	9,48	11,84	12,63	0,00	0,00	0,00	0,00
≥ 20	Cd	48,50	28,29	28,29	36,38	0,00	0,00	0,00	0,00
	Ni	185,93	141,47	129,34	125,30	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	80,84	48,50	60,63	64,67	0,00	0,00	0,00	0,00
Travailleurs (≥ 20)	Cd	43,2064 3432	25,2037 5335	25,2037 5335	32,4048 2574	1,3507 E-05	7,879 E-06	7,879 E-06	1,013 E-05
	Ni	165,624 6649	126,018 7668	115,217 1582	111,616 622	0,0005 1776	0,000 3939	0,000 3602	0,000 3489

Pb	72,0107 2386	43,2064 3432	54,0080 429	57,6085 7909	0,0002 2511	0,000 1351	0,000 1688	0,000 1801
-----------	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	----------------	---------------	---------------	---------------

Tableau 47: Doses moyennes d'exposition par ingestion de sol à vie chez les deux scénarios pour l'année 2019 et 2021.

Classe s d'âges (ans)	Métaux	Dose moyenne d'exposition par ingestion de sol chez la population générale (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	0,27	0,16	0,16	0,21	1,28	0,51	0,38	1,03
	Ni	1,05	0,80	0,73	0,71	2,05	1,28	1,15	1,03
	Pb	0,46	0,27	0,34	0,36	2,56	2,05	2,18	3,20
0,5 à < 5	Cd	8,30	4,84	4,84	6,22	10,72	4,29	3,22	8,58
	Ni	31,82	24,21	22,13	21,44	17,15	10,72	9,65	8,58
	Pb	13,83	8,30	10,37	11,07	21,44	17,15	18,22	26,80
5 à < 12	Cd	1,48	0,86	0,86	1,11	12,74	5,10	3,82	10,19
	Ni	5,66	4,31	3,94	3,81	20,39	12,74	11,47	10,19
	Pb	2,46	1,48	1,85	1,97	25,49	20,39	21,66	31,86
12 à < 20	Cd	0,48	0,28	0,28	0,36	7,90	3,16	2,37	6,32
	Ni	1,84	1,40	1,28	1,24	12,63	7,90	7,11	6,32
	Pb	0,80	0,48	0,60	0,64	15,79	12,63	13,42	19,74
≥ 20	Cd	2,46	1,43	1,43	1,84	40,42	16,17	12,13	32,34
	Ni	9,41	7,16	6,55	6,34	64,67	40,42	36,38	32,34
	Pb	4,09	2,46	3,07	3,27	80,84	64,67	68,71	101,05
Travai lleurs (≥ 20)	Cd	10,938 3378	6,3806 97051	6,3806 97051	8,2037 53351	36,005 36193	14,402 14477	10,801 60858	28,804 28954
	Ni	41,930 29491	31,903 48525	29,168 9008	28,257 37265	57,608 57909	36,005 36193	32,404 82574	28,804 28954
	Pb	18,230 563	10,938 3378	13,672 92225	14,584 4504	72,010 72386	57,608 57909	61,209 11528	90,013 40483

Tableau 48: Doses moyennes d'exposition par ingestion d'eau potable à vie chez les deux scénarios pour l'année 2019 et 2021.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Dose moyenne d'exposition par ingestion d'eau potable chez la population générale (mg/kg/j)
----------------------------	--------	--

		L'année 2019		L'année 2021	
		Eau de puits	Eau canal du	Eau puits de	Eau canal du
< 0,5	Cd	- 0,00	- 0,00	0,23	0,09
	Ni	0,01	0,00	0,36	0,23
	Pb	- 0,02	- 0,05	0,46	0,36
0,5 à < 5	Cd	- 0,00	- 0,02	6,92	2,77
	Ni	0,03	0,01	11,07	6,92
	Pb	- 0,10	- 0,30	13,83	11,07
5 à < 12	Cd	- 0,00	- 0,02	1,23	0,49
	Ni	0,03	0,01	1,97	1,23
	Pb	- 0,11	- 0,31	2,46	1,97
12 à < 20	Cd	- 0,00	- 0,01	0,40	0,16
	Ni	0,02	0,00	0,64	0,40
	Pb	- 0,08	- 0,22	0,80	0,64
≥ 20	Cd	- 0,01	- 0,08	2,05	0,82
	Ni	0,16	0,03	3,27	2,05
	Pb	- 0,49	- 1,38	4,09	3,27
Travailleurs (≥ 20)	Cd	- 0,005432	- 0,071312	9,115281501	3,6461126
	Ni	0,1392815	0,0278563	14,5844504	9,1152815
	Pb	- 0,433305	- 1,230831	18,230563	14,5844504

Tableau 49: Doses moyennes d'exposition par ingestion de divers aliments à vie chez les deux scénarios pour l'année 2019 et 2021.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Dose moyenne d'exposition par ingestion de divers aliments chez la population générale (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	0,07	0,18	- 0,00	- 0,00
	Ni	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	0,21	0,18	0,00	0,00
	Pb	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	0,39	0,57	- 0,02	- 0,05
0,5 à < 5	Cd	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	2,07	5,53	- 0,00	- 0,03
	Ni	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	6,22	5,53	0,03	0,00
	Pb	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	11,76	17,29	- 0,08	- 0,26
5 à < 12	Cd	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	0,37	0,98	- 0,00	- 0,03
	Ni	- 0,00	- 0,01	- 0,00	- 0,00	1,11	0,98	0,03	0,00

12 à < 20	Pb	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	2,09	3,08	- 0,09	- 0,27
	Cd	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	0,12	0,32	- 0,00	- 0,02
	Ni	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	0,36	0,32	0,02	0,00
≥ 20	Pb	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	0,68	1,00	- 0,06	- 0,19
	Cd	- 0,00	- 0,00	- 0,00	- 0,00	0,61	1,64	- 0,01	- 0,13
	Ni	- 0,01	- 0,02	- 0,02	- 0,02	1,84	1,64	0,13	0,02
Travailleurs (≥ 20)	Pb	- 0,01	- 0,01	- 0,01	- 0,01	3,48	5,12	- 0,40	- 1,20
	Cd	- 0,0021045	- 0,0011653	- 0,0024476	- 0,00261	2,73458445	7,2922252	- 0,0078	- 0,115186
	Ni	- 0,0077504	- 0,0152517	- 0,0168587	- 0,017958	8,20375335	7,2922252	0,1114252	0,0139282
	Pb	- 0,0051197	- 0,0050382	- 0,0099404	- 0,012738	15,4959786	22,7882038	- 0,352382	- 1,070378

2.2.3. Risques toxicologiques cancérogènes

Les tableaux suivants exposent les résultats du calcul du risque cancérogène en fonction des voies et des périodes d'exposition pour les deux scénarios. Le chrome, le cuivre, le fer, le manganèse et le zinc n'étant pas des substances considérées comme cancérogènes (IARC, 2012b), seuls le cadmium, le nickel et le plomb ont fait l'objet de calcul de risques cancérogènes (IARC, 2012a). Il est nécessaire de rappeler que nous ne disposons pas de coefficient de cancérogénicité pour le cadmium et le nickel par voie d'ingestion, ce qui exclut le calcul de risques de cancer pour ces deux métaux par voie orale.

Tableau 50: Risques additionnels de cancers (scénarios 1 et 2) par inhalation de poussières de sol pour l'année 2019 et 2021.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Risque additionnel par inhalation de poussières de sol chez la population générale (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	0,24	0,14	0,14	0,18	-	-	-	-
	Ni	0,07	0,05	0,05	0,05	-	-	-	-
	Pb	0,01	0,00	0,00	0,00	-	-	-	-
0,5 à < 5	Cd	2,04	1,19	1,19	1,53	0,00	0,00	0,00	0,00
	Ni	0,59	0,45	0,41	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	0,05	0,03	0,04	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
5 à < 12	Cd	2,43	1,42	1,42	1,82	0,00	0,00	0,00	0,00

12 à < 20	Ni	0,70	0,53	0,49	0,47	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	0,06	0,04	0,05	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
	Cd	1,50	0,88	0,88	1,13	0,00	0,00	0,00	0,00
	Ni	0,43	0,33	0,30	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	0,04	0,02	0,03	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
≥ 20	Cd	7,70	4,49	4,49	5,77	0,00	0,00	0,00	0,00
	Ni	2,21	1,68	1,54	1,49	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pb	0,19	0,12	0,14	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00
Travailleurs (≥ 20)	Cd	6,86	4,00	4,00	5,14	1,74	1,01	1,01	1,30
	Ni	1,97	1,50	1,37	1,33	0,50	0,38	0,35	0,34
	Pb	0,17	0,10	0,13	0,14	0,04	0,03	0,03	0,03

Selon le tableau (50), les résidents de la zone d'El-Karma ne courent pas de risque toxicologique cancérigène suite aux concentrations de cadmium, de nickel et de plomb qu'ils respirent en 2021. Par contre, les travailleurs sont confrontés à un risque formel de cancer dû à l'inhalation de cadmium.

Pourtant, en 2019, bien que l'inhalation de particules de sol ne présente pas de risque toxicologique cancérigène immédiat pour les nourrissons, le groupe des jeunes enfants âgés de 0,5 à moins de 5 ans, les enfants âgés de 5 à moins de 12 ans et de 12 ans à 20 ans, sont potentiellement à risque en raison d'une augmentation des concentrations de cadmium dans les sols échantillonnés à cette période. Chez les adultes du scénario 2 et les travailleurs exposés au cadmium et au nickel, les valeurs de Radd sont supérieures au seuil d'un cas pour 1 000 000 d'individus.

Tableau 51: Risques additionnels de cancers (scénarios 1 et 2) par ingestion de sol pour l'année 2019 et 2021.

Classes d'âges (ans)	Métal x	Risque additionnel par ingestion de sol chez la population générale (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	53,62	32,17	40,21	42,89	301,59	241,27	256,35	376,99
0,5 à < 5	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	1627,37	976,42	1220,53	1301,90	2522,43	2017,94	2144,06	3153,04
5 à < 12	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-

	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	289,51	173,71	217,13	231,61	2998,49	2398,79	2548,71	3748,11
12 à < 20	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	94,07	56,44	70,55	75,26	1857,87	1486,30	1579,19	2322,34
≥ 20	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	481,54	288,92	361,15	385,23	9510,38	7608,31	8083,83	11887,98
Travailleurs (≥ 20)	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	2144,77	1286,86	1608,58	1715,82	8471,85	6777,48	7201,07	10589,81

Le tableau (51) explicite les risques cancérigènes engendrés par l'ingestion de plomb contenu dans les différents sols échantillonnés en 2019 et 2021. Les résultats du tableau révèlent que les doses de plomb ingérées dans les échantillons de sol analysés en 2021 sont plus élevées que celles ingérées lors de l'année 2019 pour chacun des scénarios étudiés.

Tableau 52: Risques additionnels de cancers (scénarios 1 et 2) par ingestion d'eau potable pour l'année 2019 et 2021.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Risque additionnel par ingestion d'eau potable chez la population générale (mg/kg/j)			
		L'année 2019		L'année 2021	
		Eau de puits	Eau canal	Eau de puits	Eau canal
< 0,5	Cd	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-
	Pb	- 2,17	- 6,17	53,62	42,89
0,5 à < 5	Cd	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-
	Pb	- 12,29	- 34,90	1627,37	1301,90
5 à < 12	Cd	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-
	Pb	- 12,67	- 36,00	289,51	231,61
12 à < 20	Cd	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-
	Pb	- 9,01	- 25,60	94,07	75,26
≥ 20	Cd	-	-	-	-

	Ni	-	-	-	-
	Pb	- 57,23	- 162,55	481,54	385,23
Travailleurs (≥ 20)	Cd	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-
	Pb	- 50,98	- 144,80	2144,77	1715,82

Les excès de cancer rapportés dans le tableau (52) démontrent que les concentrations en plomb ingérées lors de la consommation régulière d'eau potable en 2019 ne présentent pas de risque cancérigène. En parallèle, il ressort également de ce tableau que la présence de plomb dans les eaux de puits et de canal analysées en 2021 est une source de risque de cancer pour les riverains et les agriculteurs via leur exposition orale au plomb.

Tableau 53: Risques additionnels de cancers (scénarios 1 et 2) par ingestion de divers aliments pour l'année 2019 et 2021.

Classes d'âges (ans)	Métaux	Risque additionnel par ingestion de divers aliments chez la population générale (mg/kg/j)							
		L'année 2019				L'année 2021			
		Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
< 0,5	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	- 0,01	- 0,03	- 0,08	- 0,10	45,57	67,02	- 1,77	- 5,37
0,5 à < 5	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	- 0,23	- 0,17	- 0,29	- 0,37	1383,27	2034,22	- 9,99	- 30,35
5 à < 12	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	- 0,28	- 0,20	- 0,32	- 0,41	246,08	361,89	- 10,31	- 31,31
12 à < 20	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	- 0,17	- 0,16	- 0,22	- 0,29	79,96	117,59	- 7,33	- 22,27
≥ 20	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pb	- 0,68	- 0,67	- 1,31	- 1,68	409,31	601,92	- 46,54	- 141,36
Travailleurs (≥ 20)	Cd	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ni	-	-	-	-	-	-	-	-

	Pb	- 0,60	- 0,59	- 1,17	- 1,50	1823,06	2680,97	- 41,46	- 125,93
--	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	---------	---------	---------	----------

Comme le stipulent les valeurs du tableau (53), il n’y a pas de risque toxicologique formel attribuable à l’exposition aux métaux préoccupants par l’ingestion de cultures alimentaires collectées en 2019. En revanche, il existe un risque cancérigène non négligeable imputable à la consommation de blé dur issu des sols S1 et S2 de la zone d’El-Karma en 2021. L’absorption de plomb par l’ingestion d’autres aliments demeure marginale chez les citoyens, en particulier chez les personnes en bas âge (< 0,5).

3. Evaluation du risque écotoxicologique

3.1. Calcul des risques écotoxicologiques formels

Le rapport entre les valeurs du tableau (22) et celles du tableau (18) permet de définir le risque écotoxicologique pour les plantes et les invertébrés (vers de terre). Les valeurs ombrées des tableaux 54 et 55 correspondent à un risque écotoxicologique formel pour le récepteur concerné (le quotient est supérieur à 1).

Tableau 54: Risques écotoxicologiques pour les plantes.

Métaux	Risque écotoxicologique chez les plantes (mg/kg/j)							
	L’année 2019				L’année 2021			
	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
Cd	36,36	21,21	21,21	27,27	30,30	12,12	9,09	24,24
Cr	475,00	302,78	297,22	283,33	311,11	294,44	277,78	272,22
Cu	3,27	2,75	2,58	2,41	1,63	1,03	0,95	0,86
Fe	-	-	-	-	-	-	-	-
Mn	-	-	-	-	-	-	-	-
Ni	16,20	12,32	11,27	10,92	5,63	3,52	3,17	2,82
Pb	1,20	0,72	0,90	0,96	1,20	0,96	1,02	1,50
Zn	4,36	3,45	2,99	3,13	5,40	3,91	2,34	3,26

Le tableau (54) permet de constater que le cadmium, le chrome, le cuivre, le nickel, le plomb et le zinc mesurés dans le site possèdent des risques écotoxicologiques formels pour les plantes terrestres. On peut donc affirmer que tous ces métaux (qui ont des valeurs de référence) ont des RE supérieurs à 1 chez toutes les cultures végétales, à quelques exceptions près. Pour les pommes de terre, les pois chiches et les lentilles prélevés respectivement des

sols S2, S3 et S4 en 2019, ainsi que pour le blé dur du sol S2 en 2021, le plomb ne présente pas de risque écotoxicologique formel. De même, le risque du cuivre est négligeable pour les espèces cultivées dans les sols S3 et S4 en 2021.

Tableau 55: Risques écotoxicologiques pour les vers de terre.

Métaux	Risque écotoxicologique chez les vers de terre (mg/kg/j)			
	L'année 2021			
	Sol S1	Sol S2	Sol S3	Sol S4
Cd	0,29	0,12	0,09	0,23
Cr	8,99	8,51	8,03	7,87
Cu	0,20	0,13	0,12	0,10
Fe	-	-	-	-
Mn	-	-	-	-
Ni	0,11	0,07	0,06	0,06
Pb	0,02	0,01	0,01	0,02
Zn	0,36	0,26	0,15	0,21

Les risques estimés dans le tableau (55) indiquent que les vers de terre ne présentent aucun risque écotoxicologique significatif pour les concentrations de Cd, Cu, Ni, Pb et Zn dans les sols issus du site contaminé. Cependant, les données obtenues signifient que le chrome occasionne un risque formel pour la santé de ces récepteurs.

4. Synopsis des risques calculés

Dans cette étude, nous avons déterminé les différentes concentrations en métaux lourds (notamment Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb et Zn), auxquelles une population cible (travailleurs sur le site et résidents), classée par tranche d'âge (nourrissons, enfants, adolescents et adultes) a été exposée, par plusieurs voies d'exposition (ingestion, inhalation et contact cutané), à travers trois sources (sol, eau et aliments). Cette exposition génère différents types de risques : non cancérigènes, cancérigènes et même écotoxicologiques pour certains récepteurs biologiques (plantes terrestres, invertébrés du sol). Il est nécessaire, au regard de la multiplicité de ces risques, de réaliser une synthèse de ces derniers. Les tableaux 56, 57 et 58 résument donc les risques toxicologiques et écotoxicologiques calculés en fonction des scénarios et des récepteurs exposés, des métaux concernés, des voies et des périodes d'exposition.

Tableau 56: Synopsis des risques toxicologiques chez les travailleurs (scénario 1) durant l'année 2019 et 2021.

Risques	Voies d'exposition	L'année 2019							L'année 2021								
		C d	C r	C u	F e	M n	N i	P b	Z n	C d	C r	C u	F e	M n	N i	P b	Z n
Risques toxicologiques (effets non cancérogènes)	Inhalation de poussières de sol	X (1 à 4)	n. d	X (1 à 4)	n. d	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	n. d	-	n. d	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	-
	Ingestion de sol	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	n. d	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	n. d	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)
	Ingestion d'eau de puits	-	-	X	n. d	X	X	-	X	X	X	X	n. d	X	X	X	X
	Ingestion d'eau du canal	-	-	X	n. d	X	X	-	X	X	X	X	n. d	X	X	X	X
	Ingestion de divers aliments	-	-	-	n. d	X (1 à 4)	-	-	-	X (1 et 2)	X (1 et 2)	X (1 à 4)	n. d	X (1 à 4)	X (1 à 3)	X (1 et 2)	X (1 à 4)
Risques toxicologiques (effets cancérogènes)	Inhalation de poussières de sol	X (1 à 4)	n. d	n. d	n. d	n. d	X (1 à 4)	-	n. d	X (1 à 4)	n. d	n. d	n. d	n. d	-	-	n. d
	Ingestion de sol	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	X (1 à 4)	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	X (1 à 4)	n. d
	Ingestion d'eau de puits	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	-	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	X	n. d
	Ingestion d'eau du canal	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	-	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d	X	n. d

Ingestion de divers aliments	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	-	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	X	n.d
															(1 et 2)	

Légende :

- = Risque formel absent ; X = Risque formel présent ; n.d = non disponible
 (1) = Sol S1 ; (2) = Sol S2 ; (3) = Sol S3 ; (4) = Sol S4

Les risques non cancéreux liés à l'exposition par inhalation des travailleurs du site d'El-Karma aux particules de Cd, Cu, Mn, Ni, Pb et Zn atteignent un nombre de 6 en 2019 et se réduisent à 4 en 2021. Le risque de cancer à la suite d'une inhalation de cadmium et de manganèse passe à 2 au cours de l'année 2019, tandis que ce risque se limite à un cas pour le Cd en 2021.

Quant à l'exposition aux métaux par ingestion de sol au cours des années 2019 et 2021, elle induit 7 risques sanitaires non cancérogènes aux agriculteurs et seulement un risque de cancer par une exposition au nickel dans les quatre sols.

En revanche, ces personnes sont soumises à 4 risques toxicologiques non cancéreux résultant de leur consommation d'eaux souterraines contaminées par le cuivre, le manganèse, le nickel et le zinc en 2019, mais sans risque de cancer. La santé humaine dans le scénario 1 est par contre menacée par un nombre élevé de risques en 2021, notamment 7 risques non cancérogènes et un seul risque de cancer associé à l'exposition au plomb dans l'eau de puits et de canal.

Les cultures implantées sur des sols contaminés ne présentent pas de risques pour les travailleurs autres que le cancer en 2019, à l'exception du risque non cancérogène lié à une exposition au manganèse par la consommation de plantes cultivées sur des sols S1, S2, S3 et S4. À partir de 2021, 7 risques non cancéreux sont détectés et un risque de cancer est identifié suite à l'exposition au Pb dans les sols 1 et 2.

Tableau 57: Synopsis des risques toxicologiques chez les résidents (scénario 2) durant l'année 2019 et 2021.

Risques	Voies d'exposition	L'année 2019							L'année 2021						
		Cd	Cu	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn	Cd	Cu	Cu	Fe	Mn	Ni

Risques toxicologiques (effets non cancérogènes)	Inhalation de poussières de sol	X (1 à 4) (a à e)	n. d	X (1 à 4) (a à e)	n. d	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	n. d	X (1 à 4) (b et c)	n. d	X (1 à 4) (b à e)	X (1 à 4) (b à e)	X (1 à 4) (b à e)	-
	Ingestion de sol	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	n. d	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	n. d	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)
	Ingestion d'eau de puits	-	-	X (a à e)	n. d	X (a à e)	X (a à e)	-	X (a à e)	X (a à e)	X (a à e)	X (a à e)	n. d	X (a à e)	X (a à e)	X (a à e)	X (a à e)
	Ingestion d'eau du canal	-	-	X (a à e)	n. d	X (a à e)	X (a à e)	-	X (a à e)	X (a à e)	X (a à e)	X (a à e)	n. d	X (a à e)	X (a à e)	X (a à e)	X (a à e)
	Ingestion de divers aliments	-	-	X (1 à 4) (b et c)	n. d	X (1 à 4) (a à e)	-	-	-	X (1 à 2) (a à e)	X (1 à 2) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	n. d	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)	X (1 à 2) (a à e)	X (1 à 4) (a à e)
Risques toxicologiques (effets cancérogènes)	Inhalation de poussières de sol	X (1 à 4) (b à e)	n. d	n. d	n. d	n. d	X (1 à 4) (e)	-	n. d	-	n. d	n. d	n. d	n. d	-	-	n. d

Ingestion de sol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	X (1 à 4) (a à e)	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	X (1 à 4) (a à e)	n.d
Ingestion d'eau de puits	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	-	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	X (a à e)	n.d
Ingestion d'eau du canal	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	-	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	X (a à e)	n.d
Ingestion de divers aliments	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	-	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	X (1 à 2) (a à e)	n.d

Légende :

- = Risque formel absent ; X = Risque formel présent ; n.d = non disponible

(1) = Sol S1 ; (2) = Sol S2 ; (3) = Sol S3 ; (4) = Sol S4

(a) = classe d'âges des nourrissons (< 0,5 an) ; (b) = classe d'âges des jeunes enfants (0,5 an à < 5 ans) ; (c) = classe d'âges des enfants (5 ans à < 12 ans) ; (d) = classe d'âges des adolescents (12 ans à < 20 ans) ; (e) = classe d'âges des adultes (20 ans)

Dans le cas des résidents vivant à proximité du site d'étude, l'exposition par inhalation aux métaux pertinents trouvés dans les sols S1, S2, S3 et S4 pendant les deux années 2019 et 2021, entraîne 6 risques non cancérigènes chez tous les groupes d'âge, avec absence d'effets pour les doses de chrome et de fer inhalées. En ce qui concerne le risque additionnel de cancer de la voie respiratoire, on ne constate que 2 risques en 2019. En effet, le cadmium engendre un effet cancérigène chez toutes les tranches d'âge, alors que le nickel n'engendre un excès de cancer que chez les adultes.

L'exposition par ingestion des habitants aux sols étudiés en 2019 et 2021 fait ainsi apparaître globalement 7 risques non cancérigènes par rapport à un potentiel de risques cancérigènes liés à la contamination des sols par le plomb.

La contamination de l'eau potable par le cuivre, le manganèse, le nickel et le zinc en 2019 est à l'origine de 4 risques non cancéreux pour la population générale, contre 7 en 2021.

Une absence de risque de cancer est observée en 2019 face à un risque de cancer par ingestion de Pb dans l'eau des puits et des canaux en 2021.

Quant à l'ingestion de végétaux, on observe deux risques non cancéreux liés à la contamination des sols par le cuivre et le manganèse au cours de l'année 2019. Pour 2021, un risque de cancer par l'ingestion d'aliments contaminés par le plomb contenu dans les sols S1 et S2 est détecté chez les nourrissons.

Tableau 58: Synopsis des risques écotoxicologiques chez les récepteurs biologiques durant l'année 2019 et 2021.

Risques	Récepteurs biologiques	L'année 2019								L'année 2021							
		Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
Risques écotoxicologiques	Plantes	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	n.d	n.d	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)	n.d	n.d	X (1 à 4)	X (1 à 4)	X (1 à 4)
	Vers de terre	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	-	X (1 à 4)	-	n.d	n.d	-	-	-

Légende :

- = Risque formel absent ; X = Risque formel présent ; n.d = non disponible
 (1) = Sol S1 ; (2) = Sol S2 ; (3) = Sol S3 ; (4) = Sol S4

Six métaux sont généralement préoccupants pour la santé des milieux environnementaux (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn). Les risques pour les plantes apparaissent significativement plus importants en nombre et en gravité que les risques pour les invertébrés terrestres. On dénombre en effet six risques écotoxicologiques pour les végétaux retenus en 2019 et 2021 contre un seul risque pour les vers de terre exposés au chrome dans les sols S1 à S4. Par conséquent, les vers de terre constituent d'excellents modèles de bioaccumulation.



Chapitre 4 : Discussion générale



Partie 1 : Caractérisation du sol et analyse des métaux lourds dans divers échantillons environnementaux

1. Analyse physico-chimique du sol

Les analyses physico-chimiques des sols agricoles de la région d'El-Hadjar ont porté principalement sur la détermination du pH, de la conductivité (CE), de la matière organique (MO), du carbone total (C), de l'azote (N) et du phosphore (P), etc. Toutes les caractéristiques physico-chimiques ont été effectuées selon les normes AFNOR en vigueur.

Il ressort de nos analyses que les sols d'El-Karma sont caractérisés par une texture argileuse pour le sol S1 et sablo-limoneuse pour les sols S2, S3 et S4. Ce constat paraît effectivement cohérent avec les études antérieures menées sur le site agricole dans cette région (Sbartai et *al.*, 2008b). Les quatre sols sont considérés comme alcalins avec des valeurs moyennes de pH variant entre 7,85 et 8,33. Les quatre parcelles manquent d'éléments essentiels, notamment le sodium et le manganèse. La conductivité électrique était moyenne dans la majorité des sites et la composition en matière organique (MO) semble homogène. Alors que les valeurs moyennes de N, K et P totaux sont relativement plus élevées dans les quatre parcelles, sans pour autant qu'il y ait des différences significatives entre elles dans un même sol.

Des résultats similaires ont été rapportés pour des sols cultivés avec du coton au Pakistan (Tariq et *al.*, 2016). Selon ces chercheurs, les valeurs de pH basiques ont favorisé la disponibilité des métaux essentiels tels que le calcium et le potassium. Ils ont également indiqué que la force ionique exprimée par une conductivité moyenne de 1412 $\mu\text{S}/\text{cm}$ dans ces sols, se justifie par une proportion plus élevée de cations et d'anions solubilisés dans les extraits aqueux des échantillons de sol, qui proviennent très probablement des engrais utilisés pour améliorer la fertilité des sols.

La variation du pH, notée dans nos résultats, peut être attribuée à la biodiversité des micro-organismes, de la faune et la flore dans le sol comme sources contribuant à l'activité enzymatique (Frankenberger and Johanson, 1982; Msimbira and Smith, 2020).

D'autres recherches ont corrélé la nature alcaline des sols avec l'augmentation significative de l'émission de CO_2 causée principalement par l'ajout d'engrais riches en nitrates (Wang et *al.*, 2010) ou par la respiration des microbes et des racines des plantes (Oh and Richter, 2004). Le carbone se trouve en grande quantité dans les sols S1 et S2, ce qui explique donc la basicité des sols dans notre étude.

En général, le pH est un important paramètre physique et chimique du sol, qui influe considérablement sur la disponibilité et la fertilité des éléments-traces dans l'écosystème terrestre (Neina, 2019). Selon Draszawka-Bolzan (2017), le pH modifie les formes chimiques des métaux lourds en agissant sur leur adsorption/désorption, leur précipitation/dissolution et la formation de complexes.

La présence de la matière organique et d'azote/phosphore/potassium (NPK), à la suite des applications de fertilisants phosphatés, de fumier, d'engrais organiques, composés ou hydrosolubles, joue également un rôle important dans la disponibilité des métaux lourds dans les sols (Wei et *al.*, 2020).

Par ailleurs, Hou et *al.*, (2019) ont souligné que la matière organique affecte positivement la mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds tels que le cuivre, le plomb et le zinc dans le sol en introduisant des éléments organiques dans la solution du sol sous forme de chélates synthétiques.

2. Analyse fongique du sol

Le nombre de champignons a varié entre les échantillons de sol prélevés. Quatre familles de taxons ont été détectées dans l'échantillon S4 qui était caractérisé par des concentrations moins élevées en cadmium, chrome et fer mais un pH fortement alcalin (8,29). La cause pourrait être liée à la nature basique du sol qui peut influencer la présence et la diversité des champignons dans l'échantillon (Zhang et *al.*, 2016).

Cependant, une teneur accrue en métaux lourds affecte négativement la population microbienne du sol (Ahmad et *al.*, 2005; Xie et *al.*, 2016). C'est le cas du sol S1 fortement pollué par le Cd, Cr, Cu, Ni, Fe et Mn où seule *Trichoderma sp.* a été isolée. Ces résultats sont en concordance avec Hiroki (1992) et Lenart and Wolny-Koładka (2013) qui ont signalé qu'une forte contamination du sol peut réduire la biodiversité des microorganismes et perturber l'équilibre écologique. Certains rapports indiquent que les microorganismes du sol peuvent s'adapter à la concentration accrue, voire toxique, de métaux lourds en développant divers mécanismes pour résister à la contamination métallique (Huang et *al.*, 2021). Ainsi, la présence de *Trichoderma sp.* dans l'échantillon S1 fortement pollué par des métaux lourds confirme sa capacité de résistance à ces contaminants.

3. Analyse des métaux lourds

Avant d'effectuer l'analyse des métaux lourds dans la ferme pilote Chaibi Larbi d'El-Karma, une étude préalable menée par Laib et *al.* (2020) a révélé la présence des teneurs élevées en cuivre, le zinc, le chrome, le nickel, le cadmium et le plomb dans ces sols. Par la suite, des prélèvements et des analyses métalliques ont été réalisés afin de confirmer ces résultats et d'évaluer les risques associés à la contamination des sols par les métaux lourds.

Après avoir réalisé les traitements physico-chimiques des sols, nous avons procédé à l'analyse de leur contenu en métaux lourds aux différents moments de l'échantillonnage (l'année 2019 et 2021), afin de pouvoir évaluer le taux de pollution. Les concentrations des métaux lourds dans les eaux souterraines et la végétation ont été ainsi déterminées.

En absence de normes algériennes relatives aux teneurs de références dans le sol, les eaux et les légumes, nous avons adopté une approche comparative par rapport aux normes mondiales pour interpréter nos résultats. Au cours de la première période de prélèvement, six (6) métaux lourds dont le cadmium, le chrome, le cuivre, le fer, le manganèse et le nickel, ont été jugés problématiques dans les sols pour lesquels les concentrations mesurées dans les

laboratoires internationaux dépassent les critères de qualité A ; deux (2), dont le cuivre et le zinc ont été avéré très critiques dans les eaux souterraines provenant du puits et du canal ; le fer a excédé les normes chez le blé dur et le pois chiche.

En comparaison entre les différentes périodes d'échantillonnage, les concentrations de métaux lourds dans les sols analysés en 2021 sont généralement plus faibles, mais elles restent supérieures à la normale pour quatre métaux lourds, notamment le Cd, le Cr, le Fe et le Mn, avec des concentrations de cuivre et de nickel inférieures à la normale dans ces quatre sols contrairement à ceux de 2019. La concentration maximale de métaux lourds a été détectée au niveau du site 1, étant donné qu'il s'agit de la zone la plus proche du complexe sidérurgique. En revanche, les teneurs en métaux lourds dans les eaux souterraines enregistrées en 2021 sont plus élevées que celles mesurées en 2019.

Nos observations rejoignent celles de Lenart and Wolny-Koładka (2013), qui ont évalué la contamination des sols par les métaux lourds dans une région à proximité d'ArcelorMittal Poland à Pologne. Ils ont déclaré que les concentrations en cadmium, plomb, cuivre et chrome dans les échantillons de sol étudiés ont dépassé les valeurs admissibles.

Nos résultats sont aussi en ligne avec l'étude de Li *et al.* (2018), portant sur la relation entre le contenu en métaux lourds dans le sol pollué et les paramètres physico-chimiques dans la zone de la mine d'or de Xiaoqinling, où il a été confirmé que plus la distance entre le site d'échantillonnage et l'industrie minière est grande, plus les teneurs en pH, en matière organique, et en métaux lourds (Cr, As, Ni) sont faibles, alors que certains métaux lourds comme Cu, Zn et Cd ont montré des lois opposées.

De plus, on a pu constater, en comparant les échantillons de sol et d'eau, que les niveaux de métaux variaient d'un site à l'autre dans le temps. García-Delgado *et al.* (2007) ont signalé des variations considérables entre les fractions de distribution des métaux étudiés à différentes années, et pour chaque métal individuel.

Selon Hachimi *et al.* (2014), ces données sont probablement liées à une large dispersion des particules en suspension et des poussières volatiles riches en ETM provenant des résidus miniers pour atteindre les cours d'eau et les sols proches et lointains en fonction de leur position par rapport à la direction du ruissellement et des vents dominants, ou de leurs transports par érosion éolienne en période sèche et par érosion hydrique en période humide.

Ces polluants émanant des effluents industriels migrent ensuite des eaux de surface vers les nappes phréatiques (Govil and Krishna, 2018). En effet, les analyses des eaux souterraines que nous avons réalisées en 2019 et 2021 ont montré des concentrations de Cu et Zn plus élevées dans l'eau de puits par rapport à l'eau du canal. Ces résultats sont similaires à l'étude de Cheng *et al.* (2016), qui a trouvé que les eaux souterraines étaient significativement plus contaminées que les eaux de surface.

Par contre, des études antérieures sur les niveaux de métaux lourds dans les eaux souterraines près des mines de plomb-zinc au Niger, ont révélé que des concentrations plus

élevées en Pb, As, Hg, Se et Cd, dans ces ressources en eau étaient dues à la minéralisation dans la région (Eyankware et *al.*, 2020), ce qui est cohérent avec les résultats de cette étude.

Soltan and Rashed (2003) et Papafilippaki et *al.* (2008) ont expliqué que la teneur en métaux lourds dans une eau augmente avec la diminution du pH. Si le milieu est acide, la compétition pour les sites de liaison entre les métaux et les ions hydrogène augmente, ce qui provoque la dissolution des complexes métalliques et la libération d'ions métalliques libres dans les eaux (Zohreh Mirsalari, 2014).

Des constats similaires ont été observés dans les recherches de Król et *al.* (2020), qui ont estimé que les concentrations de métaux lourds diminuent dans des conditions alcalines par la formation d'hydroxydes métalliques solubles.

Concernant les cultures du blé dur et de pois chiche cultivés dans les sols d'El-Hadjar au cours des années 2019 et 2021, une accumulation significative du Fe a été également observée dans différents compartiments des plantes. Le fer est effectivement un élément fondamental pour les espèces végétales et animales car il joue un rôle important dans les processus cellulaires (Ezemonye et *al.*, 2019). En plus, notre étude a mis en évidence l'importante variation des concentrations en métaux lourds chez les cultures. Ces variations dépendent de l'espèce végétale et de l'élément assimilé. Le blé dur, par exemple, a une teneur en cuivre plus élevée que le blé tendre.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Wang et *al.* (2003), qui ont enregistré une concentration de 1061 mg kg⁻¹ de Zn chez des plantes de *Polygonum hydropiper* poussant sur des sites près d'une fonderie en Chine, et une concentration de plus de 900 mg kg⁻¹ de cet élément chez l'espèce *Rumex acetosa* L. Cela est principalement dû à la capacité des différentes espèces végétales à absorber et à accumuler les métaux du sol (Nouri et *al.*, 2009).

La bioaccumulation des métaux lourds (Cd, Cr, Cu, Ni, Fe, Mn, Pb et Zn) a ainsi été déterminée chez les vers de terre collectés dans les quatre sols au cours de l'année 2021. Selon nos résultats, les niveaux de contamination des vers par les métaux lourds varient significativement d'un site à l'autre. Ces vers de terre ont présenté une concentration en métaux lourds plus faible que dans les sols étudiés.

Nos constats sont en adéquation avec ceux Wang et *al.* (2018), qui ont examinés la bioaccumulation des métaux lourds, notamment le Cd, Zn, Cu et Pb, pour différentes espèces de vers de terre vivant dans des sols contaminés en Chine. Ces auteurs ont montré que les vers avaient une importante plasticité à vivre dans ces sols, et ce malgré la forte absorption des métaux lourds in situ et leur aptitude à accumuler ces polluants dans les tissus.

L'absorption de ces métaux par les organismes peut être affectée par des facteurs potentiels tels que l'âge, la distribution géographique et les facteurs physiologiques propres à l'espèce (Hamidian et *al.*, 2016). Les invertébrés, en particulier, peuvent être plus fortement exposés aux polluants métalliques que d'autres animaux sur le terrain en raison de leur petite taille, de leur rapport surface/volume élevé et des zones qu'ils occupent (Monchanin et *al.*, 2021).

En général, les activités humaines, telles que les activités industrielles, l'exploitation minière et l'utilisation excessive d'engrais pour la fertilisation des sols constituent les principales sources de pollution des sols, des ressources hydriques, végétales et animales (Haiyan and Stuanes, 2003).

Par conséquent, l'accumulation de métaux lourds, tels que le cadmium, le chrome et le nickel dans le sol, peut diminuer la diversité des micro-organismes et leur activité microbienne, réduire la fertilité du sol, contaminer les récoltes et même altérer la santé humaine et animale en pénétrant dans la chaîne alimentaire (Sadrabad et *al.*, 2020).

Partie 2 : Evaluation de la toxicité des métaux lourds chez des modèles biologiques

1. Etude in situ

Les métaux lourds, résultant principalement des activités anthropiques, sont considérés comme les principaux polluants du sol (Fei et al., 2020; Jiang et al., 2020).

Certains métaux lourds tels que le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le zinc (Zn), etc. sont des oligo-éléments essentiels à la croissance des plantes. Cependant, d'autres métaux, comme l'arsenic (As), le cadmium (Cd) et le plomb (Pb) sont toxiques et peuvent être absorbés et accumulés par les végétaux. En conséquence, la contamination des sols par les métaux lourds et leur transfert aux cultures comestibles à proximité des sites industriels ont soulevé des préoccupations d'ordre environnemental et de sécurité alimentaire à travers le monde (Xu et al., 2022).

Ces éléments non biodégradables sont également accumulés par les vers de terre (Dzul-Caamal et al., 2020). Les vers *A. caliginosa* ont fait l'objet d'une attention particulière en tant que biomoniteurs (Manu, 2017). Cette espèce est l'une des plus abondantes dans les sols et est représentative des sols agricoles (Bart et al., 2018), de sorte qu'elle joue un rôle important dans la biosurveillance du stress dû à la pollution par les métaux lourds (Hirano and Tamae, 2010).

En outre, la surveillance et la restauration des écosystèmes nécessitent l'utilisation de biomarqueurs biochimiques comme signaux d'alerte précoces de pollution pour évaluer l'impact des métaux lourds in situ (Truchet et al., 2021).

Au terrain ou en laboratoire, l'exposition aux métaux lourds peut induire la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), ayant des effets délétères sur les cellules (Guo et al., 2017; Sevcikova et al., 2011). Afin de protéger les cibles moléculaires des dommages oxydatifs, les organismes vivants ont la capacité de neutraliser les ROS en développant des mécanismes de défense antioxydants enzymatiques tels que la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD), le glutathion S-transférases (GST), et non enzymatiques comme le glutathion et les caroténoïdes (Belaid and Sbartai, 2020; Sachdev et al., 2021).

Bien que les biomarqueurs aient été largement étudiés au niveau moléculaire, peu d'entre eux ont été appliqués pour l'évaluation des risques écotoxicologiques réels (Li et al., 2020). Afin de déterminer les risques relatifs des métaux lourds dans les sols d'El-Hadjar, nous nous sommes intéressés aux réponses antioxydantes du blé tendre (*Triticum aestivum*), du blé dur (*Triticum durum* Desf.) et des vers de terre *Aporrectodea caliginosa*, prélevés des sols contaminés par les métaux lourds in situ, pour comprendre le mécanisme de défense des espèces végétales et animales soumises à un stress métallique.

1.1. Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux de protéines totales

Chez les plantes, l'un des mécanismes affectés par les métaux lourds est la synthèse des protéines qui agissent comme des transporteurs pour transférer le métal (Jain et al., 2018). Le contenu en protéines solubles a été désigné comme un indicateur important de l'état physiologique des espèces végétales (Zheng et al., 2018). Dans cette étude, nous avons remarqué une diminution de la teneur en protéines dans les feuilles et les racines du blé provenant de sites pollués, particulièrement dans le site S1.

Plusieurs auteurs ont signalé que les stress environnementaux peuvent occasionner une fluctuation dans les niveaux des protéines totales (Lorenzon et al., 2011; Wu et al., 2021). En effet, la réduction du taux des protéines en présence des métaux lourds peut être expliquée par des réactions de protéolyse et libération d'acides aminées (Hasan et al., 2017). Le fer, par exemple, se fixe sur la protéine à un site de liaison aux cations divalents et réagit ensuite dans la réaction de Fenton pour former un -OH qui oxyde rapidement les résidus d'acide aminé (Sharma et al., 2012b).

En revanche, Stolt et al. (2003) ont indiqué que l'exposition des plantes à différentes concentrations de cadmium a tendance à stimuler la synthèse des protéines particulièrement, les phytochélatines dont le rôle est la détoxification. De même, Singh et al. (2004) ont trouvé une accumulation nette des protéines dans les racines et les feuilles de tomate, proportionnelle à la concentration du métal étudié. D'autres auteurs comme Chaoui et al. (1997), ont montré que le contenu en protéines n'est pas affecté, dans les parties stimulées des plantes par le Cd et le Zn chez *Phaseolus vulgaris*.

Pour les vers de terre, nos résultats montrent que les teneurs en protéines totales ont augmenté chez les vers récupérés des sols S3 et S4 par rapport aux témoins, alors qu'elles ont été réduites par les concentrations plus élevées en métaux lourds dans les sols S1 et S2.

Ces observations concordent avec celles de Jatwani et al. (2016), qui ont révélé que le taux de protéines était très réduit chez les vers de terre *Eisenia Fetida* contaminés aux 0,06 ppm de cobalt mais très élevé chez les vers traités au mercure pour une même dose. Ceci explique que la quantité de protéines varie en fonction du type de métal dans le sol.

Des études précédentes ont montré que des concentrations croissantes en métaux lourds ont provoqué une forte induction des constituants protéiques chez les vers de terre comme un mécanisme adaptatif pour atténuer la toxicité des métaux lourds (Mo et al., 2012; Otmani et al., 2018a).

Javed and Usmani (2015), ont rapporté que la synthèse des protéines pourrait être nécessaire pour répondre à la demande de réparation des tissus endommagés et à l'augmentation de la réponse immunitaire.

1.2. Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux du GSH

Avec une haute affinité pour la plupart des métaux, le glutathion est un thiol biologique de bas poids moléculaire impliqué dans la protection des cellules contre les ROS

en maintenant les groupes -SH des protéines (Jozefczak et al., 2012; Krishnamurthy and Wadhvani, 2012; Oteiza, 2012). Le GSH se lie également entre les résidus de cystéine et les métaux pour la détoxification de ces derniers (Aquilano et al., 2014; Lushchak, 2012), et agit comme un précurseur pour la synthèse des phytochélatines (Yadav, 2010).

Dans notre essai, une induction et une réduction du taux de glutathion ont été documentées chez le blé en réponse au stress lié aux métaux lourds dans les sols étudiés. Effectivement, les changements de niveau de GSH dépendent du métal et de la partie de la plante (Arya et al., 2007).

Comme dans les recherches précédentes de Freeman et al. (2004), nous avons constaté une diminution de GSH en raison de l'augmentation des concentrations de métaux lourds. Nos résultats sont aussi en accord avec ceux de Ducruix et al. (2006) et Sbartai et al. (2012), où le niveau de GSH diminue en réponse au stress induit par les fortes concentrations de Cd.

En général, la présence des métaux lourds stimule le taux de GSH, ce qui est principalement dû à la participation active de cet élément dans la détoxification des ROS générés par les métaux (Hossain et al., 2012).

Dans le cas des lombrics, on a constaté que les effets de métaux lourds sur les niveaux de GSH sont instables chez les vers de terre *A. caliginosa*, dont une augmentation et une diminution du GSH ayant été observées en fonction des sites d'échantillonnage. En particulier, un niveau élevé de GSH a été détecté dans le sol S1 très proche de la sidérurgie. Cependant, des diminutions significatives du GSH ont été observées sur les sites S2, S3 et S4.

De nombreux chercheurs ont expliqué que la déplétion du glutathion est due à la liaison des métaux lourds au groupe thiol (SH) du GSH ou à son oxydation (Elia et al., 2003; Hemmadi, 2017; Uruguchi et al., 2021).

Dans l'état opposé, Maity et al. (2008) ont indiqué une stimulation significative du taux de GSH chez les vers de terre *Lampito mauritii* exposés à un sol pollué par le plomb et le zinc. Ces auteurs ont souligné que cela pourrait être dû à une régulation accrue de la synthèse du GSH médiée par le Pb et le Zn, pouvant ainsi représenter un mécanisme de protection contre les effets toxiques de ces métaux.

A l'appui de cette étude, Haque et al. (2018) ont précisé que l'augmentation de la synthèse du GSH est induite par un mécanisme de rétroaction négative impliquant l'activité de la γ -glutamylcystéine synthétase.

1.3. Effets des mixtures de métaux lourds sur le contenu en SH_T

Les thiols de faible poids moléculaire sont des composés hautement réactifs qui jouent un rôle important dans la régulation du métabolisme cellulaire et le maintien de l'homéostasie redox dans les cellules végétales (Pivato et al., 2014).

Les résultats de cette étude ont démontré que l'exposition aux métaux lourds in situ a causé une déplétion en thiols non protéiques acido-solubles dans les tissus de blé dur et de blé

tendre. Cette observation est similaire à l'étude de Nadgórska-Socha et al. (2013), qui ont estimé une diminution de la teneur en thiols non protéiques dans les feuilles et les tiges des plantes *V. faba* exposées aux plus fortes concentrations de cadmium et de zinc. Ils ont affirmé que les molécules riches en -SH peuvent être oxydées par les pro-oxydants, tels que H₂O₂, engendrés lors d'un stress métallique.

Parallèlement, Tausz et al. (2003) ont suggéré que les groupes thiols sont susceptibles d'être oxydés pour former des disulfures (groupes S-S), ce qui justifie leur plus faible production. Bhoomika et al. (2014) ont également conclu que la tolérance à l'aluminium chez le cultivar de riz semble être associée à une réduction significative de la teneur en thiols dans les racines.

L'étude in situ de Lian et al. (2021) portant sur l'assainissement des sols contaminés par le plomb, le cadmium et le cuivre, a souligné que les ions de métaux lourds peuvent réagir avec le groupe thiol (-SH) après l'ajout de nano-silice à fonction thiol (SiO₂-SH), en formant des ions sous forme de PbS, CdS et CuS, caractérisés par une plus faible solubilité.

Selon Łukasik et al. (2019), la fonction biologique des composés thiols est liée à l'activité des groupes sulfhydryles, impliqué dans les réactions d'anti-oxydation et de détoxification des métaux.

1.4. Effets des mixtures de métaux lourds sur la teneur en PCs

Dans notre recherche in situ, nous avons montré que l'exposition aux métaux lourds a remarquablement influencé le niveau des phytochélatines dans les feuilles et les racines du blé. La teneur en PCs était plus élevée dans les cultures de blé dur provenant du sol S1.

Similairement à ce qui a été observé dans nos résultats, Szalai et al. (2020) ont manifesté la stimulation de la biosynthèse de la PC dans les racines du blé *Triticum aestivum* L. en réponse au cadmium. Une étude plus approfondie de l'induction des PCs sous stress métallique a été mise en évidence par Hossain et al. (2012), qui ont trouvé une corrélation positive entre la production de PCs et les métaux lourds. Ces conclusions sont comparables à celles de Sinaei et al. (2018).

Une augmentation de la teneur en PC dans le blé d'hiver (*Triticum aestivum* L.) poussant dans un sol agricole contaminé par cinq métaux toxiques (Cd, Cr, Pb, As, Hg) a été ainsi déclaré dans les travaux de Liu et al. (2009). Ces chercheurs ont stipulé que les plantes sous stress métallique synthétisent des peptides riches en soufre, spécifiquement les phytochélatines, pour former des complexes PC-métaux lourds qui s'accumulent dans la vacuole comme dernière étape de détoxification.

Stolt et al. (2003) ont identifié le rôle efficace de la phytochélatine dans l'homéostasie et la détoxification des métaux via la stimulation de sa biosynthèse. Cette activation est peut-être due à l'induction de gènes responsables de la synthèse des PCs, comme la phytochélatine synthase (Sun et al., 2005).

D'autre part, plusieurs rapports ont établi que la formation de PC en présence de métaux est accompagnée avec une diminution rapide des taux de GSH, étant donné que les PCs sont structurellement liés au glutathion (Ben Ammar et *al.*, 2008; Cobbett, 2000; Miersch et *al.*, 2001).

Conformément à cette hypothèse, les métaux lourds peuvent inhiber l'activité du glutathion réductase (GR), qui catalyse la réduction de GSSG en GSH, ce qui entraîne la production de phytochélatines (Prado et *al.*, 2021).

Les ions métalliques, tels que le cuivre et le cadmium sont les inducteurs les plus actifs de la synthèse de la phytochélatine dans les cellules végétales, tandis que les autres ions sont moins actifs (Borisova et *al.*, 2016). Donc chaque type de métal induit des niveaux différents d'expression de la PC.

1.5. Effets sur l'évolution du taux de MT

Dans notre étude, l'activité de la MT avait tendance à être plus élevée chez les vers de terre prévenants du sol S1. Contrairement, la MT n'a pas montré d'affinité plus élevée pour les métaux chez les autres vers. Cela pourrait suggérer que l'activité de la MT est effectivement liée à la défense contre le stress oxydatif.

Ces résultats coïncident avec les conclusions de Yuvaraj et *al.* (2020) sur la production de métallothionéines sous stress métallique chez les vers de terre épigés *E. eugeniae* et *P. excavatus*. Ils ont estimé que les lombrics sont susceptibles de produire la MT lorsqu'ils sont introduits dans un sol contaminé par des métaux lourds tout en affirmant que ces protéines peuvent interférer avec les ions métalliques en intervenant en tant que piègeur d'oxydes, comme le montre également Aemere et *al.* (2020) et Calisi et *al.* (2014).

En effet, le stress engendré par les métaux lourds, induit la synthèse de nombreuses protéines de stress, comme la métallothionéine (MT), pour contrer les effets néfastes de ces métaux (Liu et *al.*, 2014). Les métaux lourds détruisent les interactions intramoléculaires non covalentes et altèrent la structure tridimensionnelle des protéines en provoquant un mauvais repliement ou une dénaturation des protéines, et donc leur inhibition (Chatterjee et *al.*, 2020). Toutefois, l'activation accélérée des gènes codants pour certaines protéines de stress et la synthèse ultérieure de ces protéines sont considérées comme un biomarqueur spécifique de la contamination métallique (M'kandawire et *al.*, 2017).

1.6. Effets des mixtures métalliques sur l'activité CAT

Dans cette expérimentation, l'activité CAT la plus élevée a été observée sur les sites les plus pollués, où nous avons également détecté la teneur la plus élevée en métaux lourds. Les valeurs les plus faibles de cette activité ont été observées sur les sites pollués S1 et S4.

Ces résultats sont en ligne avec ceux rapportés par Malar et *al.* (2014), où l'activité CAT a été stimulée dans les plantes en présence du plomb, mais elle a été diminuée à des doses plus élevées de Pb. Ces observateurs ont supposé que la production excessive de ROS

par le stress causé par les métaux lourds peut inhiber l'activité de la CAT à des doses plus élevées de métaux lourds, probablement en désactivant l'enzyme liée au groupe hème.

De plus, ces résultats sont semblables à ceux trouvés par Boudjema et *al.* (2014), qui ont observé que l'augmentation de l'activité catalase indique également que le stress de la pollution a élevé le taux de formation de H₂O₂.

Odjegba and Fasidi (2007), qui ont analysé les activités des enzymes antioxydantes chez les plantes *Eichhornia crassipes* et *Pistia stratiotes* soumises à des mélanges de métaux lourds, ont soutenu la possibilité que le stress métallique accru réduit la capacité des plantes à assimiler le carbone, ce qui entraîne une augmentation du flux d'électrons photosynthétiques vers l'oxygène moléculaire, d'où une production accrue de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radical hydroxyle.

D'après Kim et *al.* (2005), la catalase est considérée comme un marqueur central dans la protection contre le stress oxydatif chez les céréales, principalement dans des conditions de stress abiotique. C'est une enzyme oxydoréductase la plus universelle qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène (Heck et *al.*, 2010). Elle est sollicitée dans la désintoxication des ROS dans la plante (Bhaduri and Fulekar, 2012).

Concernant les vers de terre, notre expérience a permis de déterminer une diminution de l'activité catalase dans les tissus de vers exposés aux mélanges métalliques et une forte stimulation pour les doses les plus élevées. Ces résultats s'alignent avec les résultats de Sheng et *al.* (2021) qui ont déclaré que les vers de terre *Eisenia fetida* exposés aux plus fortes concentrations ont manifesté des indications de stress oxydatif, accompagnées d'une forte augmentation de la catalase.

Similairement, Mnkandla et *al.* (2019) ont trouvé qu'une exposition accrue aux métaux lourds a augmenté significativement l'activité antioxydante de la CAT chez les mollusques en considérant que la CAT est la principale enzyme de détoxification des métaux.

Cependant, un déclin significatif de l'activité catalase suite à l'exposition aux métaux lourds a également été affirmé par Mahamood et *al.* (2021), qui ont justifié cette diminution par la surproduction de SOD ou de son substrat H₂O₂.

Evidemment, les niveaux de peroxyde d'hydrogène expliquent fortement les taux d'activité de la CAT, ce qui signifierait que cette dernière est en corrélation avec les mécanismes de protection contre l'augmentation de H₂O₂ (Abdou et *al.*, 2021).

Ainsi, de nombreux chercheurs ont démontré que les métaux inhibent l'activité de la CAT, ce qui peut être dû à la forte liaison des cofacteurs métalliques avec cette enzyme (Ma et *al.*, 2017).

1.7. Effets des mélanges métalliques sur l'activité LOX

Dans notre travail, l'activité LOX a été affectée négativement chez le blé cultivé dans les quatre sols contaminés par des mélanges de métaux lourds. Cette activité a diminué de

façon plus marquée avec l'augmentation des métaux dans le sol S1. Ces changements révèlent l'étendue du stress oxydatif induit par la toxicité des métaux lourds in situ chez le blé dur et le blé tendre. Nos résultats sont en concordance avec ceux de Namdjoyan *et al.* (2018), qui ont montré que l'activité LOX a fortement diminué chez les plantes de carthame suite à un excès de zinc. Ces auteurs ont associé indirectement la déplétion de l'activité LOX à une réduction des ROS attribuée à l'augmentation des activités antioxydantes et l'oxyde nitrique (NO), qui peuvent piéger les radicaux peroxydes et inhiber la peroxydation lipidique.

Ceci est contradictoire aux observations de Li and Song (2020), qui ont précisé qu'un excès de zinc a favorisé l'activité LOX chez *Arabidopsis thaliana*. Ils ont discuté la contribution de LOX à la peroxydation des membranes en induisant des hydroperoxydes et des espèces réactives de l'oxygène.

Par ailleurs, les lipoxygénases (LOX) sont capables de dégrader les membranes en catalysant la dioxygénation d'acides gras polyinsaturés, fixés à leur surface dans des conditions de stress, produisant des acides gras hydroperoxydés toxiques pour la cellule (Ali *et al.*, 2005).

Des études antérieures ont détaillé le rôle de la LOX, fortement présente dans les graines en tant que protéines de stockage végétatif, et son implication considérable dans le processus de maturation des graines et de croissance des plantules, ainsi que sa participation à la peroxydation lipidique dans des conditions de stress dues aux métaux lourds (Viswanath *et al.*, 2020).

Selon les résultats obtenus sur les échantillons de vers de terre, la présence de métaux lourds dans les sols S2, S3 et S4, n'a pas altéré le niveau de LOX. Au contraire, une absence d'activité a été obtenue pour les lots échantillonnés du sol S1. Des résultats similaires ont également été observés par Skórzyńska-Polit (2007) qui ont mis en évidence que la fonction LOX dépend de l'état redox de la cellule et que son activité peut être irréversiblement perdue par la dissociation des complexes protéolytiques ou par la libération d'ions ferriques constituant le centre actif de l'enzyme, en raison de la production excessive d'acides gras polyinsaturés relargués par les membranes.

Dans des publications antérieures, plusieurs auteurs ont prouvé l'implication des réactifs réducteurs tels que peroxyde d'hydrogène, la cystéine et l'acide ascorbique dans la réduction supplémentaire de l'activité LOX (Mitsuda *et al.*, 1967).

Selon Hossain *et al.* (2012), la lipoxygénase (LOX) est peut-être inactivée par les métaux lourds, qui ont une affinité de liaison avec les résidus de cystéine. D'autre part, certaines analyses ont suggéré que l'ATP extracellulaire pourrait jouer un rôle important dans la régulation des activités de LOX en cas de stress métallique (Hou *et al.*, 2017).

2. Etude in vivo

La contamination des sols par les métaux lourds suite aux activités anthropiques, telles que l'exploitation minière et l'agriculture, est une préoccupation environnementale majeure (Adimalla *et al.*, 2019; Ni *et al.*, 2018; Schreck *et al.*, 2009).

Une fois présents dans les sols agricoles, les métaux lourds peuvent être absorbés par les racines des plantes, puis transportés vers les parties comestibles, altérant ainsi la croissance, le métabolisme et les processus biologiques des plantes comme la photosynthèse, l'assimilation des nutriments et l'état hydrique (Yuanan et *al.*, 2020).

Pour les invertébrés du sol, les vers de terre sont considérés comme représentatifs de la faune du sol, et apparaissent comme un indicateur fiable pour caractériser la contamination métallique des sols (Fujii and Kaneko, 2009; Römbke et *al.*, 2005; Suthar et *al.*, 2008; Uwizeyimana et *al.*, 2017).

Dans l'ensemble, l'accumulation de métaux lourds dans les tissus végétaux ou animaux peut générer des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui induisent un stress oxydatif susceptible de provoquer plusieurs dommages oxydatifs (Espín et *al.*, 2014; Kapoor et *al.*, 2019). Cependant, les voies antioxydantes enzymatiques, comme la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la gâïacol peroxydase (GPX), et les antioxydants non enzymatiques, y compris les antioxydants de faible poids moléculaire tels que les thiols non protéiques, peuvent atténuer les effets délétères du stress oxydatif (Farooq et *al.*, 2019).

Plusieurs rapports ont documenté l'effet combiné des métaux lourds dans les plantes (Hou et *al.*, 2007; Kalyvas et *al.*, 2020; A. K. Nayak et *al.*, 2018; Qaswar et *al.*, 2020; Yan et *al.*, 2020). Toutefois, les études portant sur les effets combinés de métaux lourds chez les vers de terre anéciques sont quasiment rares et, en particulier, aucune donnée n'est disponible concernant l'impact des métaux lourds sur l'espèce *Aporrectodea giardi*. La toxicité des mélanges de métaux lourds a été démontrée pour d'autres espèces appartenant à d'autres taxons (Coelho et *al.*, 2018; Hobbelen et *al.*, 2006; Li et *al.*, 2010; Wang et *al.*, 2015).

Comparativement aux études des effets combinés des mixtures de métaux qui reflètent objectivement la contamination des écosystèmes, les études de toxicité individuelle des métaux présentent généralement un avantage restreint, sauf si la corrélation des résultats avec les données de toxicité d'autres mixtures de métaux est assurée (Kang and Kong, 2016).

C'est dans ce contexte que la présente étude a examiné les réponses du blé dur (*Triticum durum* Desf.) et du ver de terre *Aporrectodea giardi* au stress oxydatif induit par des mixtures de cadmium, chrome, cuivre, nickel, manganèse et fer en évaluant les mécanismes antioxydants via l'utilisation des biomarqueurs biochimiques, en l'occurrence, la teneur en protéines totales, le glutathion, les thiols non protéiques acido-solubles, la phytochélatine, la métallothionéine, l'activité de la catalase (CAT) et de la lipoxigénase (LOX).

2.1. Effets des mixtures de métaux lourds sur la croissance du blé

Les métaux lourds sont phytotoxiques et pourraient induire le dysfonctionnement de processus biologiques majeurs chez les plantes, y compris un retard de croissance (Lysenko et *al.*, 2020; Nedjimi, 2018). Les résultats de cette étude ont indiqué que la germination des graines de *Triticum durum* était considérablement inhibée par les différents traitements aux métaux lourds. Le pourcentage de germination a été significativement réduit dans les graines

ayant reçu des concentrations accrues de métaux dans la mixture M2. Des données similaires ont été obtenues précédemment chez les plante du blé (*Triticum aestivum* L.) exposées à sept métaux différents (Pb, Cd, Hg, Cr, Cu, Ni et Zn) (Pokorska-Niewiada et al., 2018).

Dans une autre étude, Ali and Nas (2018) ont rapporté que l'interaction des métaux lourds avec des enzymes importantes, principalement la protéase et l'amylase, peut inhiber la germination. Effectivement, le Nickel (Ni) affecte la germination des plantes à graines en bloquant les activités des enzymes amylase, protéase et ribonucléase (Sethy and Ghosh, 2013).

Généralement, la germination des graines dépend presque entièrement des matériaux de stockage des graines dégradés par plusieurs enzymes. L'amidon, par exemple, est la réserve la plus abondante d'une graine, métabolisée par l'amylase. En conséquence, une interférence des métaux lourds avec ces voies enzymatiques se traduit par leurs effets néfastes sur la germination des plantes (Liu et al., 2007).

D'autres chercheurs ont associé l'inhibition de la germination à un faible potentiel osmotique de l'eau dans le milieu de culture, notamment en cas de stress métallique élevé, ce qui provoque une assimilation insuffisante de l'eau par le grain (Kalai et al., 2013).

En parallèle, la longueur de la première feuille du blé dur soumis à un stress métallique pendant 4 semaines a été calculée. Dans les lots traités, l'application des mixtures M1, M2 M3 et M4 a inhibé l'élongation des feuilles du blé dur. L'allongement foliaire des plantes témoins est resté supérieur à celui des échantillons traités. Nos résultats sont en parfait accord avec ceux de Diaconu et al. (2020) qui ont évalué l'effet du chrome et du cadmium sur la croissance de *Lepidium sativum*. Ils ont indiqué que l'exposition au Cr et au Cd dans les sols peut influencer l'absorption et la translocation des métaux essentiels dans les plantes par des mécanismes interactifs impliquant divers transporteurs.

En outre, Khan et al. (2015) ont déclaré que l'impact négatif de fortes doses en métaux lourds sur la croissance des plantes peut être attribué à une altération de la structure chromosomique.

La diminution de la croissance des plantes en présence de mixtures de métaux lourds peut également s'expliquer par la possibilité que certains métaux lourds soient compétitifs avec d'autres. Par exemple, une quantité supplémentaire de sélénium (Se) a neutralisé les effets délétères de niveaux élevés de Cd en augmentant la biomasse, le contenu en pigments, la teneur en protéines et en sucre (Maleki et al., 2017). Lors d'une exposition à long terme, la stimulation de l'élongation foliaire est très probablement due à une accumulation anticipée des concentrations plus élevées dans les macrophytes (Outa et al., 2020).

2.2. Effets des mixtures de métaux lourds sur le taux de protéines totales

Les protéines sont les principales cibles des métaux lourds (Hasan et al., 2017). Leur structure ainsi que leur fonction peuvent être endommagées suite à une exposition excessive aux ROS (He et al., 2017). En effet, ces radicaux interagissent avec des molécules de signalisation sensibles à l'oxydoréduction, dont les protéines tyrosine phosphatases, les

protéines kinases et les canaux ioniques, qui contiennent des résidus de cystéine ayant des groupes SH oxydés, ce qui entraîne une perturbation de leur activité biologique et une régulation de plusieurs processus cellulaires tels que la transduction du signal (Dutta et al., 2018; Kurutas, 2015).

Les résultats de notre étude ont montré que les traitements combinés aux métaux lourds ont diminué et augmenté les protéines totales dans les feuilles et les racines du blé dur. Ceci est en ligne avec Khan et al. (2015) qui ont confirmé que les effets induits par les métaux lourds sur les niveaux de protéines ont été contradictoires.

Les recherches de Georgiadou et al. (2018) portant sur les effets du nickel (Ni), du cuivre (Cu) et du zinc (Zn) chez la plante aromatique basilic (*Ocimum basilicum* L.) ont notamment mis en évidence une concentration protéique plus élevée chez les plantes traitées au Ni, alors que chez les plantes de basilic cultivées sur un sol contaminé au Cu, une teneur en protéines plus faible a été caractérisée.

La réduction de la teneur en protéines dans les métaux lourds peut s'expliquer par des réactions de protéolyse et d'oxydation des acides aminés (Xiong and Guo, 2021). Dans une autre revue publiée par Viehweger (2014), il a été suggéré que la synthèse des protéines est inhibée par la formation de complexes protéine-métal à des concentrations métalliques plus élevées, ce qui affecte l'enzyme ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase. Cet auteur a souligné la substitution de métaux de transition tels que le magnésium par d'autres métaux, tels que le nickel, le cobalt ou le zinc, dans l'enzyme ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase, comme exemple pertinent.

Néanmoins, les protéines jouent un rôle protecteur contre plusieurs stress chez les plantes en activant des mécanismes défensifs spécifiques (Asthir, 2015; Llorens et al., 2020). Ceci est en accord avec les résultats de Rejeb et al. (2014) qui ont exprimé une défense accrue de la plante par l'activation de la protéine kinase (MPK1 et MPK2) dans la tomate, qui interagissent avec les voies de signalisation ROS et ABA. Tout de même, la synthèse des protéines, notamment des phytochélatines impliquées dans les mécanismes de détoxification, est stimulée en présence des xénobiotiques dans les tissus (Benavides et al., 2005; Cobbett, 2001).

Cette augmentation est justifiée par la capacité des protéines à maintenir le potentiel hydrique de la plante et à prévenir l'inhibition enzymatique (Chaves and Oliveira, 2004; Clemente et al., 2019). Un stress métallique peut effectivement provoquer l'accumulation de protéines qui fournissent des réserves d'azote (N) pour contribuer ultérieurement à la voie de l'osmorégulation (Parvaiz and Satyawati, 2008).

Concernant les résultats obtenus dans le cas des vers de terre, nous avons mis en évidence une augmentation d'une manière dose dépendante du taux de protéines totales chez les vers de terre traités par les mixtures M1, M2, et M4. Nos résultats correspondent aux travaux suscités par Otmani et al. (2018) qui ont également enregistré une augmentation du contenu en protéines totales chez les vers de terre *Allolobophora caliginosa* traités avec des concentrations croissantes de cadmium.

Evidemment, la liaison de cations métalliques à des ligands protéiques qui causent des réarrangements stériques altère la fonction physiologique des protéines cellulaires. En interférant avec le processus de repliement des protéines natives, les métaux lourds perturbent l'homéostasie des protéines en provoquant leur agrégation dans les cellules vivantes (Tamás et al., 2014).

Ainsi, cette stimulation se justifie par la résistance du ver de terre anécique *A. giardi* aux polluants à travers l'activation de systèmes de détoxification. Dans la littérature, les espèces anéciques du taxon *L. terrestris* semblaient être moins sensibles aux stress chimiques que les vers de terre épigées *Eisenia fetida* (Dittbrenner et al., 2011). De plus, l'étude de Šrut et al. (2019) a affirmé que l'exposition au cadmium entraînait une augmentation des microbiomes intestinaux des vers de terre (*Lumbricus terrestris*), décrites comme résistantes aux métaux lourds et capables de se lier à ces xénobiotiques, révélant le potentiel du système microbiote lombo-intestinal à surmonter la pollution par les métaux lourds.

Contrairement, certains auteurs rapportent la diminution du taux des protéines totales chez des invertébrés (Yücel and Cüneyt, 2019). Ces résultats vont dans le même sens de nos analyses chez les vers traités par la mixture M3, qui suggèrent que l'exposition des organismes aux métaux lourds conduit à l'oxydation des protéines qui cause de nombreuses modifications allant de la simple oxydation d'un acide aminé jusqu'à la fragmentation des chaînes peptidiques, d'où la diminution de leur taux en protéines.

2.3. Effets des mélanges de métaux lourds sur le taux du GSH

Le GSH est un thiol cellulaire de faible poids moléculaire qui constitue la première ligne de défense antioxydante en maintenant le statut redox intracellulaire et les antioxydants non-enzymatiques sous leur forme réduite (Kükürt et al., 2021).

Nos résultats ont révélé que le taux de GSH a augmenté de manière significative dans les feuilles et les racines du blé dur à des concentrations métalliques plus faibles, mais a diminué à des concentrations hautement toxiques. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par Ashraf et al. (2017) où le niveau de GSH dans les plantes de riz a été augmenté à une faible concentration de Pb et a diminué en réponse au stress induit par des concentrations élevées de Pb.

Plusieurs études ont montré que le GSH est impliqué dans la régulation des oxydants et des radicaux libres, notamment le H₂O₂, qui oxyde directement le GSH en GSSG (Souri et al., 2021). Ce tripeptide joue un rôle important dans la détoxification des métaux lourds en excès par chélation directe (Hasanuzzaman et al., 2017; Kim et al., 2017). De plus, le cycle Ascorbate-glutathion (AsA-GSH) joue un rôle clé en coordination avec les isoenzymes APX pour piéger H₂O₂ dans les cellules végétales (Shigeoka et al., 2002).

Le rôle du GSH en tant que précurseur des phytochélatines (PCs) dans les cellules végétales, qui sont considérées comme essentielles pour la détoxification des ions métalliques, a également été désigné (Kühnlénz et al., 2014; Thangavel et al., 2007).

Chez les vers de terre, nous avons noté une variation dans le taux du GSH qui augmente pour M2 et M3, et diminue pour les autres concentrations à la fin du traitement. Cette évolution est notamment rapportée par Yang *et al.* (2012), qui explique qu'elle peut être due à une régulation de la voie de synthèse GSH, mécanisme de protection contre les effets toxiques du métal indiquant que les vers de terre n'ont pas réussi à faire face au stress métallique, et continuent à synthétiser le GSH pendant une courte période d'exposition.

En parallèle, l'étude menée par Baloun *et al.* (2010) sur les interactions du GSH avec le cadmium par une technique électrochimique a indiqué le blocage du fragment sulfhydryle libre de ce peptide par les ions Cd (II), principalement lié à la formation d'un complexe GSH-ion de métal lourd.

2.4. Effets des mixtures de métaux lourds sur le contenu en SH_T

Le traitement combiné des métaux a réduit la teneur en thiols non protéiques acido-solubles par rapport au témoin. En revanche, une augmentation de la synthèse des groupes thiols proportionnelle à l'augmentation des concentrations en métaux lourds a été observée dans le système racinaire du blé dur.

Ces résultats sont consistants avec les travaux d'Aly and Mohamed (2012), qui ont étudié l'effet du cuivre sur les composés thiols dans des cultivars de maïs (*Zea mays* L.) pendant 15 jours. Ces chercheurs ont interprété la baisse des niveaux de composés soufrés dans les plantes sous stress métallique par la réduction du soufre conduisant à des perturbations métaboliques, comme l'épuisement du glutathion et la synthèse de phytochélatine. De plus, Maleki *et al.* (2017) ont démontré que la toxicité du chrome sur la plante médicinale *O. tenuiflorum*, se manifeste par une réduction des valeurs de thiols non protéiques.

Inversement, l'augmentation de la production de SH non protéique a été signalée dans la littérature pour les racines d'*Eichhornia crassipes* exposées à une concentration de Cd (Pal *et al.*, 2019). Des études antérieures ont proposé que le GSH soit impliqué dans la composition d'autres composés thioliques dans les plantes (Rocha *et al.*, 2018). Khanna *et al.* (2019) ont affirmé que l'accumulation de métaux peut diminuer les niveaux de glutathion et augmenter la synthèse de composés chélateurs de métaux contenant des groupes sulfhydryles (-SH), tels que les composés NP-SH.

Les groupes thiols protègent les composants cellulaires des plantes en tant que régulateurs redox contre le stress oxydatif causé par les métaux lourds (Pivato *et al.*, 2014). Ces thiols, par leur nature nucléophile, jouent un rôle prépondérant dans la formation des liaisons mercaptide-métal (Sidhu and Bali, 2021).

2.5. Effets des mixtures de métaux lourds sur la teneur en PCs

La concentration de phytochélatines a été évaluée dans les racines et les feuilles de blé en fonction de différents mélanges de métaux lourds. Les résultats obtenus ont montré une augmentation significative de la teneur en PCs dans le blé dur. Cette évolution a été plus

importante dans les racines que dans les feuilles du blé, atteignant sa valeur optimale dans les racines et son minimum dans les feuilles à la concentration la plus élevée (M2).

Ces résultats corroborent avec Sytar *et al.* (2013), qui ont exposé une augmentation de la synthèse de la phytochélatine en réponse au Cd. Ces derniers ont noté que les PCs peuvent former des complexes avec les métaux lourds, qui sont ensuite transportés vers le tonoplaste, puis vers la vacuole, où ils peuvent être stockés et détoxifiés des cellules.

Ainsi, les niveaux de PCs étaient généralement plus élevés dans les racines que dans les feuilles, probablement en raison de la production de ROS dans les tissus racinaires puisqu'ils sont les premiers organes en contact avec les métaux dans les sols contaminés comme précédemment montré par Yadav *et al.* (2021).

Les phytochélatines (PCs) sont des peptides capables de fixer les métaux lourds, tels que les ions de Cd, Cu, Zn et Pb (Ranieri *et al.*, 2005; Talebi *et al.*, 2019). Leur rôle dans la détoxification des métaux lourds a été largement identifié dans de nombreuses études (Hayashi *et al.*, 2020; Su *et al.*, 2020; Vidayanti and Permatasari, 2020).

2.6. Effets des mixtures métalliques sur le taux de MT

Des études antérieures ont démontré que l'exposition aux métaux lourds déclenche un certain nombre de réponses adaptatives telles que l'induction de la métallothionéine (Wang *et al.*, 2011). Ceci a été observé dans notre expérimentation sur les vers de terre qui estime une augmentation de l'activité de la MT chez les vers traités par les mixtures métalliques par rapport aux témoins.

L'étude de Sato and Kondoh (2002) a révélé que la métallothionéine (MT) est une protéine omniprésente, riche en cystéine, qui se lie aux métaux. Elle semble être une protéine protectrice produite en réponse à une variété de stress.

Par contre, la déplétion du taux de MT dans cette étude fait suite à sa participation dans les mécanismes de détoxification de métaux lourds en formant un complexe avec ces xénobiotiques qui se lient aux groupements sulfhydriques des métalloprotéines et peuvent contribuer à leur oxydation (Ahlem and Youcef, 2015; Tamás *et al.*, 2014).

L'étude de Ahearn *et al.* (2004) sur les mécanismes de séquestration et de désintoxication des métaux lourds chez les crustacés explique que les invertébrés possèdent des protéines de bas poids moléculaire spécifiquement les métallothionéines, intervenant dans les mécanismes de séquestration intracellulaire des métaux en impliquant des sites de liaison de haute affinité sur la MT.

2.7. Effets des mixtures métalliques sur l'activité CAT

Les résultats acquis lors de notre essai dans le cas du blé ont montré que des concentrations élevées de métaux lourds ont diminué l'activité de la catalase dans la variété du blé dur. Cette activité est apparue comme étant significativement inhibée par les différents traitements dans les racines de blé.

Ces résultats sont cohérents avec ceux de Sbartai et *al.* (2012) qui ont constaté que l'exposition au Cd a inhibé l'activité de la CAT dans les plantes de tomates (*Lycopersicon esculentum* L.). Ils ont émis l'hypothèse que la concentration élevée de cadmium a bloqué l'absorption du métal par la compétition au niveau des récepteurs cellulaires en formant des complexes protéiques avec les métaux.

La diminution de l'activité de cette métallo-enzyme pourrait également être interprétée par une activation des systèmes de détoxification des ROS, principalement formés par des enzymes comme la catalase (Hasanuzzaman et *al.*, 2020).

Selon Hou et *al.* (2007), la catalase constitue le principal système de défense antioxydant, piégeant les espèces réactives de l'oxygène générées par les métaux lourds dans les cellules végétales. Elle est connue pour catalyser la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène.

En deuxième lieu, la mesure de l'activité CAT chez les vers de terre montre une inhibition de cette activité, prouvant ainsi que les systèmes de défenses en question sont dépassés et remplacés par d'autres plus performants. Ces résultats corroborent avec ceux de Grara et *al.* (2012) chez les escargots, qui soulignent que l'inhibition du système antioxydant enzymatique se traduit par une déméthylation des protéines, et une altération des fonctions cellulaires faisant intervenir des thiols réactifs.

D'autre part, la présente étude définit clairement une corrélation entre l'exposition aux métaux et l'induction de la catalase. Pour une période de 24 jours et par rapport aux 12 jours de traitement, nous remarquons une augmentation de l'activité CAT, à l'origine d'une intensification de l'activité antioxydante, pour contrer l'accumulation des radicaux oxygénés.

Ce résultat était en accord avec ceux de Atilia et *al.* (2016) qui ont attesté que l'augmentation de l'activité CAT chez les invertébrés d'*Helix aspersa* suite à une exposition aux métaux lourds est un mécanisme adaptatif pour empêcher l'accumulation d'intermédiaires réactifs toxiques de l'oxygène. Ces auteurs ont estimé que l'exposition aux métaux lourds induit des enzymes antioxydantes comme la CAT pour neutraliser l'impact de la génération des ROS.

2.8. Effets des mixtures métalliques sur l'activité LOX

Dans le cas du blé dur, les mixtures métalliques appliquées ont diminué l'activité de la lipoxygénase à un niveau hautement significatif ($P \leq 0,001$) dans les deux parties végétales du blé, avec un effet inhibiteur aux doses les plus élevées (M2 et M4) produisant une inactivation totale de son métabolisme après une période d'exposition de 30 jours. Des résultats similaires ont été trouvés dans l'étude de Skórzyńska-Polit et *al.* (2006), qui ont observé une baisse de l'activité LOX dans les plantes d'*A. thaliana* traitées au cadmium et au cuivre.

Certaines recherches préalables ont également confirmé que les changements dans la LOX cytosolique peuvent varier en fonction du tissu végétal et du type de métal lourd (Maleki et *al.*, 2017).

Une étude récente réalisée sur du poivron (*Capsicum annum*) exposé au sulfate de cuivre a montré que la peroxydation lipidique peut se produire simultanément avec l'activation des LOX (Koç and Karayiğit, 2021). Dans cet aspect, la diminution de l'activité LOX constatée dans nos données est probablement due à une activation du système de défense antioxydant pour prévenir la peroxydation lipidique.

Des recherches approfondies ont cité que les oxylipines, qui sont produites à partir d'acides gras polyinsaturés (PUFA) par l'activité lipoxygénase (Du et *al.*, 2020), ont été impliquées dans les réponses des plantes aux métaux lourds (Remans et *al.*, 2010).

La littérature révèle que ces acides gras cytotoxiques sont métabolisés en de nombreux composés chimiques impliqués dans le système de défense des plantes, la signalisation et la voie de l'apoptose (Gigot et *al.*, 2010).

Khan et *al.* (2015) ont souligné que les acides gras formés par LOX pourraient être considérés comme un bioindicateur de la toxicité des métaux lourds, car ils peuvent avoir des effets positifs sur le métabolisme des lipides dans les plantes, alors que d'autres métaux toxiques affectent négativement leurs niveaux dans la cellule.

Quant aux vers de terre sous l'effet du stress engendré par les mixtures métalliques, une augmentation très significative du taux de LOX chez le ver de terre *A. giardi* traités pendant de 12 jours a été enregistrée. Mais après 24 jours de traitement, l'activité LOX diminue et rejoint celle du témoin quel que soit le traitement.

Ceci est en accord avec les constatations de Skórzyńska-Polit et *al.* (2006) qui constatent que les métaux lourds spécifiquement le cadmium et le cuivre sont à l'origine de la stimulation de l'activité LOX. Conformément à ceci, Gargouri et *al.* (2008) mentionnent que la voie de la lipoxygénase est activée par à un stress chimique ou mécanique.

Les études de Li et *al.* (1997) et Wang et *al.* (2004) ont également montré que l'enzyme, particulièrement la 12-LOX, est initialement activée par la déplétion du GSH. L'analyse des résultats indique que la compétition pour l'absorption de la cystéine en présence du glutamate entraîne la déplétion de la GSH intracellulaire, qui déclenche l'activation de la 12-LOX contribuant à la synthèse accrue des hydroperoxydes lipidiques.

Selon Buchert et *al.* (2007), les lipoxygénases catalysent l'oxydation des acides gras polyinsaturés, qui contiennent des structures cis, cis-1,4-pentadiène (par exemple acide linoléique, linoléique et arachidonique). L'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électrons terminal dans les réactions catalysées par la lipoxygénase. Les principaux produits sont des radicaux hydroperoxy libres, qui génèrent en outre des hydroxyacides et des hydroperoxydes. Par conséquent, les lipoxygénases sont également capables de modifier indirectement les protéines. La capacité de réticulation des lipoxygénases a été attribuée à la fois à l'oxydation radicalaire des groupes thiol libres pour générer des liaisons disulfure et à la génération de molécules de réticulation réactives, par exemple les malondialdéhydes (Buchert et *al.*, 2007b).

Cependant, peu d'inhibiteurs réels de LOX sont présents bien que le produit lipohydroperoxyde soit un inhibiteur de l'enzyme en se liant de manière covalente autour du site actif et en bloquant efficacement le nouveau substrat d'entrer dans ce site (Murphy, 2008).

Les cations métalliques tels que Cu^{2+} et Co^{2+} inhibent l'activité enzymatique de la 5-lipoxygénase et la production d'acide 5-hydroperoxy eicosatétraénoïque (5-HPETE) (Gaschler and Stockwell, 2017). D'après nos résultats actuels et un rapport récent présentant l'action protectrice des antioxydants par l'inhibition de la 12-LOX (Wang et *al.*, 2004), l'hypothèse suggérant que l'inhibition de la LOX pourrait constituer une stratégie thérapeutique importante pour certaines maladies, mérite d'être envisagée.

2.9. Phytoaccumulation des métaux lourds dans le blé dur in vivo

Nos résultats sur la bioaccumulation de certains métaux lourds par le blé dur in vivo ont montré que chaque partie de la plante avait des capacités différentes d'absorption et d'accumulation des métaux, en fonction de la teneur en métaux lourds présents dans les mélanges. Les concentrations de métaux lourds dans les racines étaient plus élevées que dans les feuilles. Dans cette expérimentation, les valeurs de Cd, Cr, Cu, Fe, Mn et Ni chez le blé dur ne dépassaient pas les normes limites fixées pour les métaux lourds dans les plantes. Par conséquent, le blé dur cultivé en laboratoire ne possède aucun risque de contamination par ces éléments.

Remon et *al.* (2005) ont supposé que la disponibilité des métaux dans le sol est faible pour les plantes et que leur transfert vers les parties aériennes des plantes ne représente pas une voie de translocation majeure.

Cette diffusion peut être influencée par des processus de compétition et d'antagonisme intervenant dans les tissus végétaux en présence d'autres métaux non seulement toxiques, tel que le Cd, mais aussi essentiels, comme le fer (Vasile et *al.*, 2021).

Partie 3 : Evaluation des risques sanitaires, toxicologiques et écotoxicologiques (une approche intégrée)

Le développement du secteur industriel a entraîné la contamination de plusieurs sites dans leur sillage (Baize and Mench, 2004). L'évaluation des risques liés aux sols pollués où la teneur en métaux lourds représente un impact pour l'environnement et la santé publique, constitue un intérêt mondial majeur (sommets : de Rio de Janeiro (1992) ; de Kyoto (1997) ; de New York (1997) ; de Bonn, (2001) ; etc.).

En Algérie, une analyse effectuée par un bureau d'études suisses en partenariat avec la direction de la recherche appliquée-Sider a permis de recenser que plus de 20 000 personnes atteintes de problèmes respiratoires, l'asthme en particulier et autres pathologies dermiques sont à l'origine des retombées industrielles du complexe sidérurgique d'El-Hadjar (Abed Ghars et *al.*, 2016).

Afin de mettre en valeur l'impact des sols pollués par les métaux lourds sur la santé de la population avoisinante, nous avons mené une enquête auprès de 100 individus dont 25 agriculteurs opérant au site et 75 résidents habitant à proximité de la zone d'El-karma (Annaba) ont été interrogés à l'aide de deux questionnaires types.

Dans un premier temps, il nous paraît pertinent de réaliser un profil synthétique de l'échantillon qui a fait l'objet de cette étude. Nous avons constaté que l'inhalation des mauvaises odeurs venant de l'usine industrielle est perçue comme un phénomène d'agression pour les habitants, d'autant que leur durée résidentielle s'étend sur plus de 20 ans.

Gérin a noté que les substances malodorantes constituent un véritable enjeu d'ordre sanitaire (Gérin et *al.*, 2003). En effet, les composés chimiques à l'origine des odeurs désagréables appartiennent principalement aux COV (composés organiques volatils) tels que les solvants chlorés et le benzène, etc (Carre, 2006).

Si le seuil olfactif atteint une concentration maximale acceptable pour une valeur limite d'exposition fixée à 8 heures, la toxicité intrinsèque de la substance est alors susceptible de mettre en cause l'apparition de plusieurs effets (Tissot and Lafon, 2006).

Au surplus, Schiffman et *al.*, (2005) ont annoncé que la manifestation simultanée de certains symptômes (maux de tête, nausées, crises de toux, irritations nasales et oculaires) traduit l'existence d'un impact d'exposition aux odeurs.

Les résultats de notre étude affirment ainsi que la majorité des citoyens évitent d'aérer leurs habitations face à un pic de pollution malodorante. Ceci explique le taux élevé d'humidité observé dans les logements.

En fait, la fermeture des fenêtres favorise notamment l'humidité et l'accumulation de polluants (particules, composés organiques volatils, moisissures, ...) provenant de l'air extérieur et diffusés directement dans la maison (Association QUALITEL, 2017). Ces

émissions sont plus élevées à l'intérieur qu'à l'extérieur dans plus des deux tiers des habitations (Kirchner et *al.*, 2006a).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la mauvaise qualité de l'air intérieur influe sur la santé. Elle présente des risques à court et à long terme et provoque des troubles plus ou moins graves. En 2003, une étude réalisée au Québec par Halewyn et *al.*, (2003), a détaillé que la teneur en humidité dans l'air intérieur est un facteur de développement de pathogènes ou de moisissures, responsables des symptômes respiratoires.

Dans cette perspective, l'article R.111-9 du Code de la Construction et de l'Habitation précise qu'un bon renouvellement d'air est primordial afin d'évacuer l'humidité et les polluants (*Arrêté du 24 mars 1982 relatif à l'aération des logements*).

En addition, des lignes directrices OMS relatives à la qualité de l'air définissent des valeurs guide pour les polluants de l'air extérieur et de l'air intérieur (OMS, 2006), avec une hygrométrie recommandée comprise entre 30 et 70 % (NF EN ISO 7730, 2006).

Par ailleurs, cette enquête a permis de montrer que les enfants interrogés fréquentent régulièrement les sites défavorisés situés à proximité de la zone industrielle suite à l'absence d'installations de loisirs dans cette région. L'ingestion de sol et de particules en suspension de plomb, par exemple, constitue un danger réel pour la santé des jeunes enfants (Mercier et *al.*, 2002). L'impact sanitaire des métaux sur les enfants de 0 à 5 ans est abondamment documenté dans la littérature (Lanphear et *al.*, 1998; Lidsky and Schneider, 2006).

Les enfants font partie alors du public le plus vulnérable en raison de leur fonction pulmonaire minimale à cet âge. Bell et *al.*, (2002) incluent aussi les personnes âgées et les individus souffrant déjà de troubles respiratoires parmi le public cible.

D'autre part, la région d'El-Karma à Annaba est caractérisée par sa production agricole d'intérêt économique important. Nous déterminons que l'utilisation des techniques culturales traditionnelles est désormais bien adoptée par les agriculteurs questionnés. L'usage de l'eau de puits est en effet très largement majoritaire. Ce résultat se justifie par le besoin d'une source d'eau fiable, peu coûteuse et accessible pour l'irrigation.

Toutefois, d'après la législation de l'OMS sur les eaux usées, l'utilisation d'eau contaminée par des résidus industriels à forte teneur en métaux lourds engendre une accumulation de ces derniers dans les sols et les cultures, provoquant ainsi des désordres sanitaires chez les agriculteurs et les consommateurs (OMS, 2012).

En vertu de l'article R. 233-1 du Code du travail, les travailleurs agricoles exposés à des produits photochimiques ou autres, doivent disposer des équipements de protection individuelle appropriés ; vêtements, gants, bottes, lunettes et équipements respiratoires de protection (*Décret n° 2019-62*, 2019).

Il est intéressant d'indiquer aussi un état de santé déficient des résidents et des agriculteurs lors de notre enquête. Nous avons mis en évidence que l'exposition aux particules de métaux, l'ingestion d'eau de puits et d'aliments contaminés, augmente également les

risques de maladies chroniques. Plus particulièrement l'arthrose, le cancer, l'hypertension artérielle (HTA), le diabète, les maladies respiratoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ainsi l'apparition de certains symptômes d'intoxication aux métaux lourds (les crises de toux, les allergies, les maux de tête, les nausées et les irritations nasales ou oculaires, etc.).

Ces données sont conformes à l'analyse de Banza et *al.*, (2009) qui a rapporté une concentration excessivement anormale de métaux lourds dans les urines des populations résidant à moins de 10 km des industries, et qui ont principalement été transférés dans l'organisme, soit par inhalation, soit par accumulation dans la chaîne alimentaire.

En outre, de précédentes études ont permis de révéler qu'une exposition continue aux poussières chargées en métaux lourds peut causer une irritation des muqueuses nasales chez l'homme, puisque la partie du tractus respiratoire supérieur est plus sensible aux particules de cuivre. Et accroît également les risques cardiovasculaires pour l'homme, notamment en raison des lésions du muscle cardiaque et des dysfonctionnements de la glande thyroïde qu'ils induisent (Vranken, 2010).

1. Facteurs d'incertitudes

Les étapes de l'évaluation peuvent comporter des incertitudes qui conduisent à des interprétations erronées des résultats. En principe, le constat d'un risque formel obtenu par un calcul de risque toxicologique ou écotoxicologique ne se traduit pas systématiquement par un impact toxique sur la santé de l'homme ou de l'espèce (Robert-Nadeau and Van Coillie, 2012). Dans cette perspective, ces facteurs ont été précisés et clairement expliqués en fonction de leur origine méthodologique dans les sections ultérieures.

1.1. Incertitudes relatives à l'évaluation des risques toxicologique

Afin de calculer l'exposition des individus par inhalation, la proportion de métaux en suspension dans l'air fixée pour les travailleurs opérant sur le site (scénario 1) est identique à celle retenue pour le scénario 2 (MEF, 1996). Néanmoins, considérant les conditions de dispersion et de distribution des différents éléments dans l'air (Pirbadali-Somarini and Peyghambarzadeh, 2020), il semble peu probable que le volume de particules de sol dans l'air extérieur du site soit similaire à celui de l'air intérieur dans les résidences.

En outre, le taux d'absorption cutanée de certains métaux a été défini par défaut à 1 % selon la procédure recommandée dans les lignes directrices 2012 de l'INSPQ, cependant il est impossible d'estimer avec certitude l'exposition par contact cutané.

1.2. Incertitudes relatives à l'évaluation des risques écotoxicologiques

Bien que les invertébrés du sol soient très nombreux, cette évaluation ne prend en compte que les vers de terre. Ce choix est justifié par le fait que les lombrics représentent les modèles les plus utilisés pour évaluer la contamination des sols par les métaux (Xiao et *al.*, 2022).

Il convient de présumer que les espèces végétales utilisées dans les études ayant servi de guide à l'évaluation des risques écotoxicologiques dans certains modèles biologiques peuvent être de nature différente de celles trouvées sur le site d'étude. Une telle variation, quoique importante, est considérée comme négligeable étant donné que les modèles utilisés ont été subséquemment validés par une sélection aléatoire de données dont les résultats ne présentent aucune ambiguïté sur le plan statistique (Robert-Nadeau and Van Coillie, 2012).



Chapitre 5 : Conclusion et perspectives



Cette étude a permis de caractériser la contamination métallique des sols dans la région d'El-Karma, Annaba, et d'en évaluer les risques sanitaires et environnementaux. Les analyses de différents échantillons ont révélé des dépassements des seuils réglementaires pour certains métaux lourds tels que le Cd, Cr, Cu, Ni, Mn et Fe dans les sols, le Cu et Zn dans les eaux souterraines, et le Fe dans les végétaux.

L'étude menée in situ a permis d'évaluer les effets des métaux lourds sur les biomarqueurs du stress oxydatif chez le blé tendre (*Triticum aestivum*), le blé dur (*Triticum durum* Desf.) et les vers de terre (*Aporrectodea caliginosa*). Les études in vivo ont démontré l'impact toxique des mélanges de métaux sur la physiologie du blé dur (*Triticum durum* Desf.) et les biomarqueurs du stress oxydatif chez le blé dur et les vers de terre *Aporrectodea giardi*.

Les métaux lourds, tels que le cadmium, le chrome, le cuivre, le nickel, le fer et le manganèse, ont des effets délétères sur les paramètres morphologiques du blé dur in vivo, entraînant une inhibition de la croissance. Ils sont également de puissants inducteurs de stress oxydant chez le blé et le ver de terre in situ et in vivo.

L'exposition de ces organismes aux différentes mixtures induit une production des protéines de faibles poids moléculaires, telles que les métallothionéines et les phytochélatines, qui agissent comme chélateurs spécifiques des métaux, et une activation du système de défense qui se traduit par une augmentation très hautement significative des composés chimiques (teneurs en protéines totales) accompagnée par le déclenchement d'un système de défense antioxydants enzymatique (catalase) et non enzymatique (glutathion).

L'activité de la CAT a augmenté pour éliminer le H₂O₂ qui pourrait inactiver plusieurs enzymes, particulièrement, les lipoxygénases caractéristiques de la peroxydation lipidique. Nous avons également constaté que le GSH a été stimulé en présence de métaux pour maintenir les groupements sulfhydryle (-SH) des protéines. Contrairement, la diminution du GSH pourrait être due à son oxydation en GSSG.

Le déclenchement des mécanismes de défense antioxydants, pour contrer les dommages oxydatifs engendrés par les ROS, est représentatif de la tolérance au stress métallique. Cela semble fournir une stratégie de détoxification pour le blé et le ver de terre afin d'atténuer le stress métallique induit par différentes concentrations de métaux lourds.

Le blé et les vers de terre sont d'excellents biomoniteurs et sont des modèles pertinents pour évaluer la pollution métallique des sols.

L'enquête menée a montré une relation entre la pollution industrielle du complexe sidérurgique et certaines maladies chez les riverains, en raison d'une exposition directe par contact cutané, par voie orale (ingestion de sol et de poussières en suspension), par voie respiratoire (inhalation de métaux lourds en suspension), ou indirecte par la consommation de denrées alimentaires contaminées (légumes, fruits, eaux souterraines, etc.).

Il est important de noter que certaines populations seront plus vulnérables : les jeunes enfants à cause de leur grande sensibilité biologique et de leur comportement (ingestion de sol

contaminé, contact plus fréquent avec la terre, etc.) et les populations rurales installées à proximité d'un site pollué.

Cette étude conclut toutefois que les prévalences des pathologies signifient clairement l'influence des habitudes alimentaires sur l'état sanitaire de la population. Autres facteurs de risques à citer, notamment la durée d'exposition, l'âge, le tabagisme, l'activité physique et les antécédents familiaux.

L'évaluation du risque toxicologique et écotoxicologique a mis en évidence des risques pour la santé humaine et l'environnement liés à la présence des métaux lourds dans les sols et les eaux.

Le calcul des risques toxicologiques des métaux concernés pour la santé humaine a permis de constater que pour tous les métaux, à l'exception du fer, les scénarios établis présentaient un risque formel. De plus, compte tenu des effets cancérogènes du cadmium, du nickel et du plomb, des risques additionnels de cancer ont été également mesurés pour ces métaux. En effet, seul le plomb a été considéré comme un indicateur de risque cancérogène car il dépasse le seuil d'un cas de cancer par million d'individus, en particulier chez les nourrissons.

Le calcul des risques écotoxicologiques réalisé a révélé que des expositions aux métaux concernés par les plantes terrestres génèrent des risques relatifs à tous ces métaux, tandis que seules les concentrations de chrome induisent des risques écotoxicologiques formels pour les vers de terre.

En conclusion, la présence des métaux dans les sols présente un risque inquiétant qu'il faudra prendre des mesures afin de réduire les menaces sur la santé publique et l'environnement. Des stratégies de vermicoremediation des sols pollués, incluant l'utilisation de vers de terre anéciques tels que le ver de terre *Aporrectodea giardi*, devraient être promues. Cette étude peut servir comme référence importante pour la réalisation d'études d'évaluation du risque lié à la contamination des sols par les métaux lourds, afin de protéger la santé des populations et des écosystèmes.

Au terme de notre travail de thèse, plusieurs suggestions peuvent être tirées à savoir :

- Evaluer le risque sur d'autres zones géographiques ;
- Estimer le risque lié à d'autres métaux tels que l'arsenic et le mercure dans les sols ;
- Calculer les expositions par contact cutané aux métaux présents dans les eaux souterraines ;
- Déterminer le risque écotoxicologique des métaux pour d'autres bioindicateurs tels que les oiseaux et les mammifères ou d'autres espèces particulières ;
- Envisager des modifications par les services responsables pour ajuster les critères de qualité des sols naturels (niveau A) et des eaux souterraines pour plusieurs métaux ;
- Réviser les valeurs de référence pour les plantes et les vers de terre en considérant l'interaction sol/plante/vers de terre ;

- Développer des techniques de remédiation appropriées pour les sols contaminés par des métaux ;
- Enfin, il est intéressant de noter que le site contient d'autres substances, comme les pesticides par exemple. Il serait donc pertinent d'évaluer leurs risques afin d'avoir une idée plus complète des risques toxicologiques et écotoxicologiques du site étudié.
- Les recommandations de l'INRA (Caquet, 2012) préconisent que les études de la contamination des écosystèmes par des substances toxiques en écotoxicologie devraient utiliser des approches complémentaires à la modélisation par la combinaison de techniques expérimentales in vivo ou in situ.



Références bibliographiques



Références bibliographiques

- Abdou, D.M., Saied, H.A., Amrousy, Y.M., 2021. Role of enzymatic and non-enzymatic antioxidants among Egyptian neonatal sepsis. *Comp. Clin. Pathol.* 30, 635–640. <https://doi.org/10.1007/s00580-021-03254-9>
- Abed Ghars, M.T., Bouhamala, K., Bouhouche, S., Kahalerras, M., 2016. Evaluation and Chemical Analysis of Particulate Pollution in the Ironworks Site of El-Hadjar. *Appl. Sci. Rep.* 15. <https://doi.org/10.15192/PSCP.ASR.2016.15.1.4752>
- Achouri, M., Louhi, A., Belaidi, W., 2017. Study of contamination and accumulation of some heavy metals in agricultural soils and durum wheat of industrial zone in Annaba (northeast Algerian). *J. Ind. Pollut. Control* 33, 645–656.
- Adamou, M.R., Pazou, E.Y.A., Deguenon, A.Y., 2019. Contamination des escargots prélevés dans la vallée de l’Ouémé au Bénin par des métaux lourds et évaluation des risques sanitaires. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 13, 126–143. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v13i1.11>
- Adimalla, N., Qian, H., Wang, H., 2019. Assessment of heavy metal (HM) contamination in agricultural soil lands in northern Telangana, India: an approach of spatial distribution and multivariate statistical analysis. *Environ. Monit. Assess.* 191, 246. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7408-1>
- Adjagodo, A., Tchibozo, M.A.D., Kelome, N.C., Lawani, R., 2016. Flux des polluants liés aux activités anthropiques, risques sur les ressources en eau de surface et la chaîne trophique à travers le monde : synthèse bibliographique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10, 1459-1472–1472. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v10i3.43>
- Aebi, H.E., 1983. Catalase. *Methods Enzym. Anal.*
- Aemere, O., Sharma, V., Lin, J., Aemere, O., Sharma, V., Lin, J., 2020. Metallothioneins in Earthworms: The Journey So Far. *Open J. Environ. Biol.* 5, 014–021. <https://doi.org/10.17352/ojeb.000016>
- AFNOR - NF X31-101, 1992. Qualité des sols - Préparation d’un échantillon de sol pour analyse physico-chimique - Séchage, émottage et tamisage à 2 mm. Statut : homologuée 7.
- Ahearn, G.A., Mandal, P.K., Mandal, A., 2004. Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: a review. *J. Comp. Physiol. B* 174, 439–452.
- Ahlem, B., Youcef, N., 2015. L’effet protecteur des antioxydants naturels dans l’intoxication du mercure chez le rat Albinos Wistar (PhD Thesis). *جامعة الإخوة منتوري قسنطينة*.
- Ahmad, I., Hayat, S., Ahmad, A., Inam, A., 2005. Effect of heavy metal on survival of certain groups of indigenous soil microbial population.
- Aissaoui, H., 2019. Caractérisation et dynamique des métaux lourds (Cu⁺², Zn⁺² et Mn⁺²) dans le sol de la région de Biskra sous l’effet de la matière organique (doctoral). Université Mohamed Kheider.
- Ali, H., Khan, E., Ilahi, I., 2019. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *J. Chem.* 2019.

- Ali, M., Nas, F., 2018. The effect of lead on plants in terms of growing and biochemical parameters: a review. *MOJ Ecol. Environ. Sci.* 3. <https://doi.org/10.15406/mojes.2018.03.00098>
- Ali, M.B., Hahn, E.-J., Paek, K.-Y., 2005. Effects of temperature on oxidative stress defense systems, lipid peroxidation and lipoxygenase activity in *Phalaenopsis*. *Plant Physiol. Biochem.* 43, 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2005.01.007>
- Almas, A., Salbu, B., Singh, B.R., 2000. Changes in partitioning of cadmium-109 and zinc-65 in soil as affected by organic matter addition and temperature. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 1951–1958.
- Aly, A.A., Mohamed, A.A., 2012. The impact of copper ion on growth, thiol compounds and lipid peroxidation in two maize cultivars (“*Zea mays*” L.) grown ‘in vitro’. *Aust. J. Crop Sci.* 6, 541–549.
- Amin, H., Arain, B.A., Jahangir, T.M., Abbasi, M.S., Amin, F., 2018. Accumulation and distribution of lead (Pb) in plant tissues of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) and sesame (*Sesamum indicum* L.): profitable phytoremediation with biofuel crops. *Geol. Ecol. Landsc.* 2, 51–60. <https://doi.org/10.1080/24749508.2018.1452464>
- Amossé, J., 2014. La faune du sol comme indicateur de la qualité des sols urbains (PhD Thesis). Université de Neuchâtel.
- Anitha, J., Jayraaj, I.A., 2012. Nutritional and antioxidant evaluation of earthworm powder (*Eudrillus euginae*). *Int. Res. J. Pharm.* 3, 177–180.
- Anonyme, 2010. Conditionnement des échantillons de sols, plantes et mo en vue d’analyse. Cirad, Mayotte.
- Apel, K., Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* 55, 373–399.
- Aquilano, K., Baldelli, S., Ciriolo, M.R., 2014. Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Front. Pharmacol.* 5, 196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00196>
- Arora, A., Sairam, R.K., Srivastava, G.C., 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Curr. Sci.* 1227–1238.
- Arrêté du 24 mars 1982 relatif à l’aération des logements, n.d.
- Artwell, K., France, N., Florence, K., 2017. Investigation of Some Metals in Leaves and Leaf Extracts of *Lippia javanica*: Its Daily Intake. *J. Environ. Public Health.* <https://doi.org/10.1155/2017/1476328>
- Arya, S.K., Khalique, S., Kumar, S., Roy, B.K., 2007. Glutathione and cysteine biosynthesis in two varieties of *Abelmoschus esculentus* in response to mine spoil. *J. Environ. Biol.* 29, 93.
- Ashraf, Sana, Ali, Q., Zahir, Z.A., Ashraf, Sobia, Asghar, H.N., 2019. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 174, 714–727.
- Ashraf, U., Hussain, S., Anjum, S.A., Abbas, F., Tanveer, M., Noor, M.A., Tang, X., 2017. Alterations in growth, oxidative damage, and metal uptake of five aromatic rice cultivars under lead toxicity. *Plant Physiol. Biochem.* 115, 461–471. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.04.019>

- Assad, M., 2017. Transfert des éléments traces métalliques vers les végétaux: mécanismes et évaluations des risques dans des environnements exposés à des activités anthropiques (PhD Thesis).
- Association Française de Normalisation : AFNOR., 1994. Dictionnaire de l'environnement : les termes normalisés. Afnor, Paris.
- Association QUALITEL, 2017. « Comment réduire la pollution de l'air intérieur » [WWW Document]. URL http://www.oqai.fr/userdata/documents/521_Guide_Qualitel.pdf (accessed 11.12.19).
- Asthir, B., 2015. Protective mechanisms of heat tolerance in crop plants. *J. Plant Interact.* 10, 202–210. <https://doi.org/10.1080/17429145.2015.1067726>
- Atailia, A., Berrebbah, H., Boucenna, M., Alayat, A., Amamra, R., Grara, N., Djebar, M.R., 2016. Biomarkers Responses of Land Snails *Helix aspersa* Exposed to Chronic Metal Pollution under Field and Laboratory Conditions. *Nat. Environ. Pollut. Technol.* 15.
- Axelrod, B., Cheesbrough, T.M., 1983. Determination of the spin state of iron in native and activated soybean lipoxygenase 1 by paramagnetic susceptibility. *Biochemistry* 22, 3837–3840. <https://doi.org/10.1021/bi00285a019>
- Azizi, N.N., 2016. Effet de la Pollution par les Métaux Lourds sur *Triticum durum* Desf. Université Badji Mokhtar - Annaba.
- Baize, D., 2016. Petit lexique de pédologie: Nouvelle édition augmentée. Quae.
- Baize, D., Mench, M., 2004. Contamination des sols et de nos aliments d'origine végétale par les éléments en traces, mesures pour réduire l'exposition. *Courr. L'environnement L'INRA* 52, 31–56.
- Baize, D., Tercé, M., 2002. Les éléments traces métalliques dans les sols: Approches fonctionnelles et spatiales. Editions Quae.
- Baloun, J., Adam, V., Trnkova, L., Beklova, M., Svobodova, Z., Zeman, L., Kizek, R., 2010. Complexes of glutathione with heavy metal ions as a new biochemical marker of aquatic environment pollution. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 497–500. <https://doi.org/10.1002/etc.78>
- Banza, C.L.N., Nawrot, T.S., Haufroid, V., Decrée, S., De Putter, T., Smolders, E., Kabyla, B.I., Luboya, O.N., Ilunga, A.N., Mutombo, A.M., Nemery, B., 2009. High human exposure to cobalt and other metals in Katanga, a mining area of the Democratic Republic of Congo. *Environ. Res.* 109, 745–752. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2009.04.012>
- Bart, S., Amossé, J., Lowe, C.N., Mougin, C., Péry, A.R.R., Pelosi, C., 2018. *Aporrectodea caliginosa*, a relevant earthworm species for a posteriori pesticide risk assessment: current knowledge and recommendations for culture and experimental design. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 33867–33881. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2579-9>
- Bassal, H., Hijazi, A., Farhan, H., Trabolsi, C., Ahmad, B.S., Khalil, A., Maresca, M., El Omar, F., 2021. Study of the Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of the Biological Extracts of *Psophocarpus tetragonolobus* Using Two Extraction Methods. *Molecules* 26, 4435. <https://doi.org/10.3390/molecules26154435>
- Beausoleil, M., Institut national de santé publique du Québec, Ministère de la santé et des services sociaux, Groupe scientifique sur l'évaluation du risque toxicologique, 2002.

- Lignes directrices pour la réalisation des évaluations du risque toxicologique pour la santé humaine: dans le cadre de la procédure d'évaluation et d'examen des impacts sur l'environnement et de l'examen des projets de réhabilitation de terrains contaminés. Santé et services sociaux, Québec, Québec.
- Behanzin, G.J., Adjou, E.S., Yessoufou, A.G., Ahoussi, E.D., Sezan, A., 2014. Effet des sels de métaux lourds (chlorure de Cobalt et chlorure de Mercure) sur l'activité des hépatocytes. *J. Appl. Biosci.* 83, 7499–7505.
- Belaid, C., Sbartaï, I., 2020. Assessing the effects of Thiram to oxidative stress responses in a freshwater bioindicator cladoceran (*Daphnia magna*). *Chemosphere* 128808. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128808>
- Bell, M., Davis, D., Cifuentes, L., Cohen, A., Gouveia, N., Grant, L., Green, C., Johnson, T., Rogat, J., Spengler, J., Thurston, G., 2002. International Expert Workshop on the Analysis of the Economic and Public Health Impacts of Air Pollution: Workshop Summary. *Environ. Health Perspect.* 110, 1163–8. <https://doi.org/10.1289/ehp.021101163>
- Ben Ammar, W., Mediouni, C., Tray, B., Ghorbel, M.H., Jemal, F., 2008. Glutathione and phytochelatin contents in tomato plants exposed to cadmium. *Biol. Plant.* 52, 314. <https://doi.org/10.1007/s10535-008-0065-9>
- Benahmed, M., 2017. Effet des précipitations sur la distribution du Zn et du Pb issus de retombées atmosphériques dans le sol: Cas de la fonderie de Tiaret (ALFET). (PhD Thesis).
- Benavides, M.P., Gallego, S.M., Tomaro, M.L., 2005. Cadmium toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17, 21–34. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100003>
- Benkhaoua, H., Haridi, S., 2017. Recherche des bactéries tolérantes aux métaux lourds (Cadmium et cuivre) dans la région de Guelma.
- Bhaduri, A.M., Fulekar, M.H., 2012. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 11, 55–69.
- Bhoomika, K., Pyngrope, S., Dubey, R.S., 2014. Effect of aluminum on protein oxidation, non-protein thiols and protease activity in seedlings of rice cultivars differing in aluminum tolerance. *J. Plant Physiol.* 171, 497–508. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.12.009>
- Białońska, D., Zobel, A.M., Kuraś, M., Tykarska, T., Sawicka-Kapusta, K., 2007. Phenolic compounds and cell structure in bilberry leaves affected by emissions from a Zn–Pb smelter. *Water. Air. Soil Pollut.* 181, 123–133.
- Bisone, S., 2012. Décontamination de sols contaminés par du cuivre du zinc et des HAP provenant de déchets métallurgiques. (PhD Thesis). Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique.
- Bispo, A., Jolivet, C., Ranjard, L., Cluzeau, D., Hedde, M., Pérès, G., 2017. Mise en place d'outils et de bio-indicateurs pertinents de la qualité des sols. *Sols Vie Souterr. Enjeux Majeurs En Agroécologie* 175–206.
- Bliefert, C., Perraud, R., 2003. *Chimie de l'environnement: Air, eau, sols, déchets*, 2e édition [française]. ed. Bruxelles : De Boeck , DL 2008.
- Borisova, G., Chukina, N., Maleva, M., Kumar, A., Prasad, M.N.V., 2016. Thiols as biomarkers of heavy metal tolerance in the aquatic macrophytes of Middle Urals,

- Russia. Int. J. Phytoremediation 18, 1037–1045.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1183572>
- Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.-P., 1990. Moisissures utiles et nuisibles - 2ème édition - Importance industrielle, , , Michel, S. Gauthier, Philippe Guy, Jean-Paul Larpent, Dunod, Collection Biotechnologies, 9782225819872 - Leslibraires.fr, Dunod. ed, Collection biotechnologies.
- Bouché, M.B., 1975a. Fonctions des lombriciens IV. Corrections et utilisations des distorsions causées par les méthodes de capture, in: Vaněk, J. (Ed.), Progress in Soil Zoology: Proceedings of the 5th International Colloquium on Soil Zoology Held in Prague September 17–22, 1973, Czechoslovak Academy of Sciences. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 571–582. https://doi.org/10.1007/978-94-010-1933-0_63
- Bouché, M.B., 1975b. Fonctions des lombriciens IV. Corrections et utilisations des distorsions causées par les méthodes de capture, in: Progress in Soil Zoology. Springer, pp. 571–582.
- Bouché, M.B., 1972. Lombriciens de France: écologie et systématique. Institut national de la recherche agronomique Paris.
- Boudjema, K., Kourdali, S., Bounakous, N., Meknachi, A., Badis, A., 2014. Catalase Activity in Brown Mussels (*Perna perna*) under Acute Cadmium, Lead, and Copper Exposure and Depuration Tests. J. Mar. Biol. 2014, e830657. <https://doi.org/10.1155/2014/830657>
- Bourrelier, P.-H., Berthelin, J., 1998. Contamination des sols par les éléments en trac... - Académie Des Sciences. Rapport n° 42 -Tec & Doc. Paris.
- Bouyer, J., Hémon, D., Cordier, S., Derriennic, F., Stucker, I., Stengel, B., Clavel, J., 2009. Épidémiologie: principes et méthodes quantitatives, INSERM. ed. Lavoisier, Paris.
- Bradford, N.A., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of a protein isolated from red cell membranes. Anal Biochem 72, 248–254.
- Bradl, H.B., 2005. Chapter 1 Sources and origins of heavy metals, in: Bradl, H.B. (Ed.), Interface Science and Technology, Heavy Metals in the Environment: Origin, Interaction and Remediation. Elsevier, pp. 1–27. [https://doi.org/10.1016/S1573-4285\(05\)80020-1](https://doi.org/10.1016/S1573-4285(05)80020-1)
- Brais, I., 2009. Procédures d'échantillonnage de l'eau pour analyse en laboratoire 1.
- Buchert, J., Selinheimo, E., Kruus, K., Mattinen, M.-L., Lantto, R., Autio, K., 2007a. 6 - Using crosslinking enzymes to improve textural and other properties of food, in: Rastall, R. (Ed.), Novel Enzyme Technology for Food Applications, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, pp. 101–139. <https://doi.org/10.1533/9781845693718.2.101>
- Buchert, J., Selinheimo, E., Kruus, K., Mattinen, M.-L., Lantto, R., Autio, K., 2007b. Using crosslinking enzymes to improve textural and other properties of food, in: Novel Enzyme Technology for Food Applications. Elsevier, pp. 101–139.
- Bułdak, Ł., Łabuzek, K., Bułdak, R.J., Kozłowski, M., Machnik, G., Liber, S., Suchy, D., Duława-Bułdak, A., Okopień, B., 2014. Metformin affects macrophages' phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent

- manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages. *Pharmacol. Rep.* PR 66, 418–429. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2013.11.008>
- Bur, T., 2008. Impact anthropique sur les éléments traces métalliques dans les sols agricoles de Midi-Pyrénées. Implications en termes de limites et de charges critiques (PhD Thesis).
- Calisi, A., Lionetto, M.G., De Lorenzis, E., Leomanni, A., Schettino, T., 2014. Metallothionein Induction in the Coelomic Fluid of the Earthworm *Lumbricus terrestris* following Heavy Metal Exposure: A Short Report. *BioMed Res. Int.* 2014, e109386. <https://doi.org/10.1155/2014/109386>
- Caquet, T., 2012. Evaluation des risques et écotoxicologie : le cas des pesticides. *Innov. Agron.* 23, 29–54.
- Caria, G., Proix, N., Ciesielski, H., 2007. Dosage du carbone organique par combustion sèche après décarbonatation automatisée des sols. *Inst. Natl. Rech. Agron.* 8èmes Rencontres Fertil. Raison. Anal. Terre COMIFER GEMAS.
- Carre, J., 2006. Pollution olfactive, sources d'odeurs, cadre réglementaire, techniques de mesure et procédés de traitement.
- CEAEQ, (Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec), 1998. Procédure d'évaluation du risque écotoxicologique pour la réhabilitation des terrains contaminés.
- CEAEQ, (Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec), 1998. Procédure d'évaluation du risque écotoxicologique pour la réhabilitation des terrains contaminés.
- Centre National d'études et de Réalisations en Urbanisme-CNERU, 1980. Etudes et réalisations en urbanisme. Recueil sur la zone industrielle d'El-Hadjar.
- Chabasse, D., Bouchara, J.-P., Gentile, L. de, Laboratoire de parasitologie-mycologie (Angers), Laboratoire de cryptogamie (Paris), 2002. Les moisissures d'intérêt médical. Bioforma, Paris.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M.H., El Ferjani, E., 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci.* 127, 139–147.
- Charbit, V., 2017. Les oligoéléments: rôle et conseils du pharmacien d'officine.
- Chatterjee, S., Kumari, S., Rath, S., Priyadarshane, M., Das, S., 2020. Diversity, structure and regulation of microbial metallothionein: metal resistance and possible applications in sequestration of toxic metals. *Metallomics* 12, 1637–1655. <https://doi.org/10.1039/D0MT00140F>
- Chavan, V.U., Melinkeri, R.R., 2013. Study of protein carbonyl group, nitric oxide and MDA (index of lipid peroxidation) as biomarkers of oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Natl J Community Med* 4, 294–9.
- Chaves, M.M., Oliveira, M.M., 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *J. Exp. Bot.* 55, 2365–2384. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh269>
- Cheng, H.N., Wartelle, L.H., Klasson, K.T., Edwards, J.C., 2010. Solid-state NMR and ESR studies of activated carbons produced from pecan shells. *Carbon* 48, 2455–2469.
- Cheng, X., Qi, W., Danek, T., Matysek, D., Huang, Q., Zhao, X., Zhou, Z., Fang, R., Zou, L., Xu, J., 2016. Heavy metal contamination of surface water and groundwater in and around Gejiu Tin Mine, Southwest China. *Inz. Miner.* 17.

- Derradji, F., Kherici, N., Caruba, R., Roméo, M., 2003. Évaluation de la pollution chimique par le zinc et le fer de la nappe profonde des graviers d'Annaba (Nord-Est d'Algérie). *Cah. Assoc. Sci. Eur. Pour Eau Santé* 8, 35–42.
- Deschamps, T., Benzaazoua, M., Bussièrre, B., Belem, T., Mbonimpa, M., 2006. Mécanismes de rétention des métaux lourds en phase solide : cas de la stabilisation des sols contaminés et des déchets industriels. *Vertigo - Rev. Électronique En Sci. Environ.* <https://doi.org/10.4000/vertigo.2171>
- Devi, P., Kumar, P., 2020. Concept and Application of Phytoremediation in the Fight of Heavy Metal Toxicity. *J. Pharm. Sci. Res.* 12, 795–804.
- Diaby, V., Kossonou Roland, N., Ake Assi, Y., Yapo Adou, F., Djama Allico, J., 2019. Evaluation of the Toxicity of Cadmium Sulfate on the Average Weight of Internal Organs in Rats Wistar 1, 7.
- Diaconu, M., Pavel, L.V., Hlihor, R.-M., Rosca, M., Fertu, D.I., Lenz, M., Corvini, P.X., Gavrilesco, M., 2020. Characterization of heavy metal toxicity in some plants and microorganisms—A preliminary approach for environmental bioremediation. *New Biotechnol.* 56, 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.01.003>
- Dillen, J., 2012. L'évaluation des risques. Wolters Kluwer Belgium.
- Dionne, G., 2013. Gestion des risques: histoire, définition et critique. Cirrelt.
- Dittbrenner, N., Schmitt, H., Capowiez, Y., Triebkorn, R., 2011. Sensitivity of *Eisenia fetida* in comparison to *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus terrestris* after imidacloprid exposure. Body mass change and histopathology. *J. Soils Sediments* 11, 1000. <https://doi.org/10.1007/s11368-011-0397-5>
- Douaoui, A., Hartani, T., 2007. Impact de l'irrigation par les eaux souterraines sur la dégradation des sols de la plaine du Bas-Chélif. *Cirad*, p. 5 p.
- Draszawka-Bolzan, B., 2017. Effect of pH and soil environment. *World News Nat. Sci.* 08.
- Du, Y., Taylor, C.G., Aukema, H.M., Zahradka, P., 2020. Role of oxylipins generated from dietary PUFAs in the modulation of endothelial cell function. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 160, 102160. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2020.102160>
- Ducruix, C., Junot, C., Fievet, J.-B., Villiers, F., Ezan, E., Bourguignon, J., 2006. New insights into the regulation of phytochelatin biosynthesis in *A. thaliana* cells from metabolite profiling analyses. *Biochimie* 88, 1733–1742.
- Duruibe, J.O., Ogwuegbu, M.O.C., Egwurugwu, J.N., 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *Int. J. Phys. Sci.* 2, 112–118.
- Dutta, S., Mitra, M., Agarwal, P., Mahapatra, K., De, S., Sett, U., Roy, S., 2018. Oxidative and genotoxic damages in plants in response to heavy metal stress and maintenance of genome stability. *Plant Signal. Behav.* 13, e1460048. <https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1460048>
- Dzul-Caamal, R., Vega-López, A., Osten, J.R., 2020. Distribution of heavy metals in crop soils from an agricultural region of the Yucatan Peninsula and biochemical changes in earthworm *Eisenia foetida* exposed experimentally. *Environ. Monit. Assess.* 192, 338. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08273-7>
- Edwards, C.A., 2004. *Earthworm Ecology*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420039719>

- Eissa, M.A., 2019. Effect of cow manure biochar on heavy metals uptake and translocation by zucchini (*Cucurbita pepo* L). *Arab. J. Geosci.* 12, 48.
- Elia, A.C., Galarini, R., Taticchi, M.I., Dörr, A.J.M., Mantilacci, L., 2003. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 55, 162–167.
- Ellman, G.L., 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82, 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdoran, F., Xie, Y., 2015. Heavy Metal Stress and Some Mechanisms of Plant Defense Response. *Sci. World J.* 2015, 756120. <https://doi.org/10.1155/2015/756120>
- Espín, S., Martínez-López, E., Jiménez, P., María-Mojica, P., García-Fernández, A.J., 2014. Effects of heavy metals on biomarkers for oxidative stress in Griffon vulture (*Gyps fulvus*). *Environ. Res.* 129, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2013.11.008>
- Eyankware, M.O., Nwankwo, N.P., Ogwah, C., 2020. Impact of past mining activities on water resources around active and abandoned mines and quarries in Ebonyi State, South-Eastern Nigeria-A mini review. *Hydro Sci. Mar. Eng.* 2.
- Ezemonye, L.I., Adebayo, P.O., Enuneku, A.A., Tongo, I., Ogbomida, E., 2019. Potential health risk consequences of heavy metal concentrations in surface water, shrimp (*Macrobrachium macrobrachion*) and fish (*Brycinus longipinnis*) from Benin River, Nigeria. *Toxicol. Rep.* 6, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.11.010>
- Fageria, N.K., Baligar, V.C., Clark, R.B., 2002. Micronutrients in Crop Production, in: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*, Advances in Agronomy. Academic Press, pp. 185–268. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(02\)77015-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(02)77015-6)
- FAO/WHO, 1996. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants in food / prepared by the forty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)., World Health Organization. World Health Organization, Rome.
- Farooq, M.A., Niazi, A.K., Akhtar, J., Farooq, M., Souri, Z., Karimi, N., Rengel, Z., 2019. Acquiring control: The evolution of ROS-Induced oxidative stress and redox signaling pathways in plant stress responses. *Plant Physiol. Biochem.* 141, 353–369.
- Favier, A., 2003. Le stress oxydant. *L'actualité Chim.* 108.
- Fei, X., Lou, Z., Xiao, R., Ren, Z., Lv, X., 2020. Contamination assessment and source apportionment of heavy metals in agricultural soil through the synthesis of PMF and GeogDetector models. *Sci. Total Environ.* 747, 141293. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141293>
- Feillet, P., 2000. Le grain de blé: composition et utilisation. Institut national de la recherche agronomique (INRA), Paris.
- Ferfar, M., Meksem Amara, L., Grara, N., Meksem, N., Bensaid, M., Djebar Mohammed, R., 2016. Phytotoxic effects of a sulfonylurea herbicide on two varieties of durum wheat (*Triticum durum* Desf). *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.* 5.
- Ferroum, A., 2015. Caractérisation des eaux superficielles de la plaine d'El Hadjar. Université Badji Mokhtar-Annaba.

- Filipiak, Z.M., Bednarska, A.J., 2021. Different effects of Zn nanoparticles and ions on growth and cellular respiration in the earthworm *Eisenia andrei* after long-term exposure. *Ecotoxicology*. <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02360-2>
- Foltete, A.-S., 2010. Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia Faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués (PhD Thesis). Université Paul Verlaine-Metz.
- Frankenberger, W.T., Johanson, J.B., 1982. Effect of pH on enzyme stability in soils. *Soil Biol. Biochem.*, A. D. McLaren Memorial Issue 14, 433–437. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(82\)90101-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(82)90101-8)
- Freeman, J.L., Persans, M.W., Nieman, K., Albrecht, C., Peer, W., Pickering, I.J., Salt, D.E., 2004. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi nickel hyperaccumulators*. *Plant Cell* 16, 2176–2191.
- Fujii, Y., Kaneko, N., 2009. The effect of earthworms on copper fractionation of freshly and long-term polluted soils. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 1754–1759. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.04.020>
- Galvez-Cloutier, R., Lefrançois, P.J., 2005. Les sols contaminés par des métaux lourds: Distribution géochimique et techniques de restauration (Première partie). *Vecteur Environ.* 38.
- García-Delgado, M., Rodríguez-Cruz, M.S., Lorenzo, L.F., Arienzo, M., Sánchez-Martín, M.J., 2007. Seasonal and time variability of heavy metal content and of its chemical forms in sewage sludges from different wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.* 382, 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.04.009>
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D., 2003. Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité Chim.* 91.
- Gargouri, M., Akacha, N.B., Kotti, F., Rejeb, I.B., 2008. Voie de la lipoxygénase: valorisation d'huiles végétales et biosynthèse de flavoïdes. *BASE*.
- Gaschler, M.M., Stockwell, B.R., 2017. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 482, 419. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>
- Ge, Y., Murray, P., Hendershot, W., 2000. Trace metal speciation and bioavailability in urban soils. *Environ. Pollut. Barking Essex* 1987 107, 137–144. [https://doi.org/10.1016/s0269-7491\(99\)00119-0](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(99)00119-0)
- Georgiadou, E.C., Kowalska, E., Patla, K., Kulbat, K., Smolińska, B., Leszczyńska, J., Fotopoulos, V., 2018. Influence of Heavy Metals (Ni, Cu, and Zn) on Nitro-Oxidative Stress Responses, Proteome Regulation and Allergen Production in Basil (*Ocimum basilicum* L.) Plants. *Front. Plant Sci.* 0. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00862>
- Gérin, M., Gosselin, P., Cordier, S., Viau, C., Quénel, P., Dewailly, É., 2003. Environnement et santé publique - Fondements et pratiques. Édisem / Tec & Doc, Paris.
- Ghannem, S., Khazri, A., Sellami, B., Boumaiza, M., 2016. Assessment of heavy metal contamination in soil and *Chlaenius* (*Chlaeniellus*) *olivieri* (Coleoptera, Carabidae) in the vicinity of a textile factory near Ras Jbel (Bizerte, Tunisia). *Environ. Earth Sci.* 75. <https://doi.org/10.1007/s12665-016-5373-3>
- Giannakoula, A., Therios, I., Chatzissavvidis, C., 2021. Effect of Lead and Copper on Photosynthetic Apparatus in Citrus (*Citrus aurantium* L.) Plants. *The Role of*

- Antioxydants in Oxidative Damage as a Response to Heavy Metal Stress. *Plants* 10, 155. <https://doi.org/10.3390/plants10010155>
- Gigot, C., Ongena, M., Fauconnier, M.-L., Wathelet, J.-P., du Jardin, P., Thonart, P., 2010. The lipoxygenase metabolic pathway in plants: potential for industrial production of natural green leaf volatiles. *BASE*.
- Gilman, J., 1957. A Manual of Soil Fungi. *Soil Sci.* 84, 183.
- Gosselin, P., 2003. Évaluation environnementale et santé. *Environ. Santé Publique - Fond. Prat.* 925–955.
- Gouaïdia, L., Guefaïfia, O., Boudoukha, A., LaidHemila, M., Martin, C., 2012. Évaluation de la salinité des eaux souterraines utilisées en irrigation et risques de dégradation des sols : exemple de la plaine de Meskiana (Nord-Est Algérien). *Physio-Géo Géographie Phys. Environ.* 141–160. <https://doi.org/10.4000/physio-geo.2632>
- Govil, P.K., Krishna, A.K., 2018. Chapter 22 - Soil and Water Contamination by Potentially Hazardous Elements: A Case History From India, in: De Vivo, B., Belkin, H.E., Lima, A. (Eds.), *Environmental Geochemistry (Second Edition)*. Elsevier, pp. 567–597. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63763-5.00023-9>
- Grara, N., Boucenna, M., Atailia, A., Berrebbah, H., Djebbar, M.R., 2012. Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. *Environ. Risques Santé* 11, 221–229. <https://doi.org/10.1684/ers.2012.0534>
- Guo, R., Zhang, W., Ai, S., Ren, L., Zhang, Y., 2017. Fluctuating asymmetry rather than oxidative stress in *Bufo raddei* can be an accurate indicator of environmental pollution induced by heavy metals. *Environ. Monit. Assess.* 189, 1–10.
- Haber, L.T., Bates, H.K., Allen, B.C., Vincent, M.J., Oller, A.R., 2017. Derivation of an oral toxicity reference value for nickel. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 87, S1–S18.
- Hachimi, M.L.E., Fekhaoui, M., Abidi, A.E., Rhoujatti, A., 2014. Heavy metal contamination of soils from abandoned mines: the case of Aouli-Mibladen-Zeïda mines in Morocco. *Cah. Agric.* 23, 213–219.
- Haiyan, W., Stuanes, A.O., 2003. Heavy Metal Pollution in Air-Water-Soil-Plant System of Zhuzhou City, Hunan Province, China. *Water. Air. Soil Pollut.* 147, 79–107. <https://doi.org/10.1023/A:1024522111341>
- Halewyn, M.-A., Leclerc, J.-M., King, N., Bélanger, M., Legris, M., Frenette, Y., 2003. Moisissures en milieu intérieur et risque pour la santé. *Bull. D'information En Santé Environnementale-INSPQ* 14, 1–6.
- Halliwell, B., 2007. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.* 35, 1147–1150.
- Hamidian, A.H., Zareh, M., Poorbagher, H., Vaziri, L., Ashrafi, S., 2016. Heavy metal bioaccumulation in sediment, common reed, algae, and blood worm from the Shoor river, Iran. *Toxicol. Ind. Health* 32, 398–409.
- Hani, A., Djorfi, S., Djabri, L., Lamouroux, C., Lallahem, S., 2007. Impact of the industrial rejections on water of Annaba aquifer (Algeria). *J. Eur. Water* 19, 20.
- Haouchine, T., Leham, K., 2016. Isolement de bactéries résistantes aux métaux lourds et évaluation de leur activité antagoniste vis-à-vis des microorganismes pathogènes. (PhD Thesis). Université Mouloud Mammeri.

- Haque, Md.N., Lee, D.-H., Kim, B.-M., Nam, S.-E., Rhee, J.-S., 2018. Dose- and age-specific antioxidant responses of the mysid crustacean *Neomysis awatschensis* to metal exposure. *Aquat. Toxicol.* 201, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.05.023>
- Hasan, M.K., Cheng, Y., Kanwar, M.K., Chu, X.-Y., Ahammed, G.J., Qi, Z.-Y., 2017. Responses of Plant Proteins to Heavy Metal Stress—A Review. *Front. Plant Sci.* 0. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01492>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S.M., Mahmud, J.A., Fujita, M., Fotopoulos, V., 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants* 9, 681.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Anee, T.I., Fujita, M., 2017. Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 23, 249–268. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0422-2>
- Hayashi, S., Tanikawa, H., Kuramata, M., Abe, T., Ishikawa, S., 2020. Domain exchange between *Oryza sativa* phytochelatin synthases reveals a region that determines responsiveness to arsenic and heavy metals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 523, 548–553. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.12.093>
- Hazourli, S., Boudiba, L., Ziati, M., 2007. Caractérisation de la pollution des eaux résiduaires de la zone industrielle d'El-hadjar, ANNABA. *LARHYSS J.* P-ISSN 1112-3680 E-ISSN 2602-7828 0, 45–55.
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., Ma, X., 2017. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell. Physiol. Biochem.* 44, 532–553. <https://doi.org/10.1159/000485089>
- Heck, D.E., Shakarjian, M., Kim, H.D., Laskin, J.D., Vetrano, A.M., 2010. Mechanisms of oxidant generation by catalase. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1203, 120–125. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05603.x>
- Hemmadi, V., 2017. A critical review on integrating multiple fish biomarkers as indicator of heavy metals contamination in aquatic ecosystem. *Int. J. Bioassays* 6, 5494. <https://doi.org/10.21746/ijbio.2017.9.5>
- Herrero, E., Ros, J., Bellí, G., Cabisco, E., 2008. Redox control and oxidative stress in yeast cells. *Biochim. Biophys. Acta BBA-Gen. Subj.* 1780, 1217–1235.
- Hippeli, S., Elstner, E.F., 1999. Transition metal ion-catalyzed oxygen activation during pathogenic processes. *FEBS Lett.* 443, 1–7.
- Hirano, T., Tamae, K., 2010. Heavy Metal-Induced Oxidative DNA Damage in Earthworms: A Review. *Appl. Environ. Soil Sci.* 2010, e726946. <https://doi.org/10.1155/2010/726946>
- Hiroki, M., 1992. Effects of heavy metal contamination on soil microbial population. *Soil Sci. Plant Nutr.* 38, 141–147. <https://doi.org/10.1080/00380768.1992.10416961>
- Hobbelen, P.H.F., Koolhaas, J.E., van Gestel, C.A.M., 2006. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa* in relation to total and available metal concentrations in field soils. *Environ. Pollut., Passive Air Sampling of Persistent Organic Pollutants* 144, 639–646. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.01.019>

- Höckner, M., Piechnik, C.A., Fiechtner, B., Weinberger, B., Tomanek, L., 2020. Cadmium-Related Effects on Cellular Immunity Comprises Altered Metabolism in Earthworm Coelomocytes. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 599. <https://doi.org/10.3390/ijms21020599>
- Hodomihou, N.R., 2016. Comment concilier l'intensification de l'agriculture périurbaine à l'aide des intrants organiques et la préservation durable des agrosystèmes tropicaux? (PhD Thesis). UAC.
- Hoenig, M., 1990. Spectrométrie d'absorption atomique électrothermique : contribution à l'établissement d'une méthodologie rationnelle pour la détermination des éléments traces dans les milieux naturels (Thèse de doctorat en Spectrochimie). Université de Lille, France.
- Hooshang, M., Jan-Erik, N., 1996. Does liquid fertilization affect fine root dynamics and lifespan of mycorrhizal short roots ? *Plant Soil* 185, 305–309.
- Hossain, M.A., Piyatida, P., da Silva, J.A.T., Fujita, M., 2012. Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation. *J. Bot.* 2012, e872875. <https://doi.org/10.1155/2012/872875>
- Hou, Q., Ye, G., Wang, R., Jia, L., Liang, J., Feng, H., Wen, J., Shi, D., Wang, Q., 2017. Changes by cadmium stress in lipid peroxidation and activities of lipoxygenase and antioxidant enzymes in Arabidopsis are associated with extracellular ATP. *Biologia (Bratisl.)* 72, 1467–1474. <https://doi.org/10.1515/biolog-2017-0176>
- Hou, S., Zheng, N., Tang, L., Ji, X., Li, Y., 2019. Effect of soil pH and organic matter content on heavy metals availability in maize (*Zea mays* L.) rhizospheric soil of non-ferrous metals smelting area. *Environ. Monit. Assess.* 191, 634. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7793-5>
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q., Chi Chang, C., 2007. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiol. Biochem.* 45, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.12.005>
- Houri, T., Khairallah, Y., Zahab, A.A., Osta, B., Romanos, D., Haddad, G., 2020. Heavy Metals Accumulation Effects on The Photosynthetic Performance of Geophytes in Mediterranean Reserve. *J. King Saud Univ. - Sci.* 32, 874–880. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.04.005>
- Huang, C.-C., Liang, C.-M., Yang, T.-I., Chen, J.-L., Wang, W.-K., 2021. Shift of bacterial communities in heavy metal-contaminated agricultural land during a remediation process. *PLOS ONE* 16, e0255137. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255137>
- Huang, L., Bell, R.W., Dell, B., Woodward, J., 2004. Rapid Nitric Acid Digestion of Plant Material with an Open-Vessel Microwave System. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 35, 427–440. <https://doi.org/10.1081/CSS-120029723>
- Huang, Y., Li, Y., Yang, J., Xu, M., Sun, B., Gao, F., Wang, N., 2015. Harmful Chemicals in Soil and Risk Assessment of an Abandoned Open Dumpsite in Eastern China. *J. Chem.* 2015, e297686. <https://doi.org/10.1155/2015/297686>
- Huynh, T.M.D., 2009. Impact des métaux lourds sur les interactions plante/ver de terre/microflore tellurique (PhD Thesis). Paris Est.
- Institut national de santé publique du Québec, Blanchet, C., équipe scientifique sur les risques toxicologiques, Institut national de santé publique du Québec, toxicologie, D. de la

- santé environnementale et de la, 2012. Lignes directrices pour la réalisation des évaluations du risque toxicologique d'origine environnementale au Québec. Direction de la santé environnementale et de la toxicologie, Institut national de santé publique Québec, Montréal.
- Iordache, M., Borza, I., 2012. The bioremediation potential of earthworms (Oligochaeta: Lumbricidae) in a soil polluted with heavy metals. *J. Food Agric. Environ.* 10, 1183–1186.
- ISO 11464, 2006. Qualité du sol – Prétraitement des échantillons pour analyses physicochimiques.
- ISO 135301, 2009. Qualité de l'eau — Lignes directrices pour le contrôle de qualité analytique pour l'analyse chimique et physicochimique de l'eau. ISO.
- Itard, Y., Bosc, R., 2006. Pollution des sols en contexte minier: démarche et choix des techniques d'évaluation du risque. Rapport final BRGM. RP-54713-FR, 71p.
- Jain, S., Muneer, S., Guerriero, G., Liu, S., Vishwakarma, K., Chauhan, D.K., Dubey, N.K., Tripathi, D.K., Sharma, S., 2018. Tracing the role of plant proteins in the response to metal toxicity: a comprehensive review. *Plant Signal. Behav.* 13, e1507401. <https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1507401>
- Jatwani, C., Gupta, R.K., Rai, R., Bansal, N., 2016. Effects of Hg/Co Toxicity in Soil on Biomolecules of Earthworm, *Eisenia Fetida*. *Procedia Environ. Sci. C*, 450–455. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.028>
- Javed, M., Usmani, N., 2015. Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting river polluted by Thermal Power Plant effluent. *Saudi J. Biol. Sci.* 22, 237–242.
- Jeannot, (R.), Jeannot (R.), Lemiere (B.), Chiron (S.), Augustin (F.), Darmendrail (D.), 2001. Guide méthodologique pour l'analyse des sols pollués. Editions BRGM, Orléans.
- Jiang, H.-H., Cai, L.-M., Wen, H.-H., Luo, J., 2020. Characterizing pollution and source identification of heavy metals in soils using geochemical baseline and PMF approach. *Sci. Rep.* 10, 6460. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63604-5>
- Joubert, A., 2008. Etude de l'effet de facteurs environnementaux sur les processus biogéochimiques de mobilisation du Pb, Zn, Cd, As et Hg dans les sols: modélisation empirique de la mobilité et phytodisponibilité des ETM (PhD Thesis). Université Henri Poincaré-Nancy 1.
- Joyeux, M., Aguilar, F., 2005. Seuil de préoccupation toxicologique pour l'analyse de risque sanitaire des substances chimiques dans les aliments 44.
- Jozefczak, M., Remans, T., Vangronsveld, J., Cuypers, A., 2012. Glutathione Is a Key Player in Metal-Induced Oxidative Stress Defenses. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 3145–3175. <https://doi.org/10.3390/ijms13033145>
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 2001. Trace elements in soils and plants CRC Press Inc. Boca Raton FL USA.
- Kabil, E.M., Semlali, L.A., Aajjane, A., Assobhei, O., 2016. Phytotoxicité de composts obtenus par compostage accéléré sur des plantes cultivées dans la région des Doukkala, Maroc 11.
- Kacholi, D.S., Sahu, M., 2018. Levels and health risk assessment of heavy metals in soil, water, and vegetables of Dar es Salaam, Tanzania. *J. Chem.* 2018.

- Kadem, D.-E.-D., 2005. Évaluation et comportement des métaux lourds (Cd – Cr – Cu – Ni – Pb – Zn et Mn) dans les sols à vocation agricole et à végétation naturelle soumis à une pollution atmosphérique. (El-Hadjar – Annaba – est Algérien). Influence de la végétation sur la dynamique de ces métaux. (PhD Thesis). Université de Batna.
- Kafel, A., Nadgórska-Socha, A., Gospodarek, J., Babczyńska, A., Skowronek, M., Kandziora, M., Rozpędek, K., 2010. The effects of *Aphis fabae* infestation on the antioxidant response and heavy metal content in field grown *Philadelphus coronarius* plants. *Sci. Total Environ.* 408, 1111–1119.
- Kalai, T., Khamassi, K., Silva, J.A.T. da, Gouia, H., Ben-Kaab, L.B., 2013. Cadmium and copper stress affect seedling growth and enzymatic activities in germinating barley seeds. *Arch. Agron. Soil Sci.* 60, 765–783. <https://doi.org/10.1080/03650340.2013.838001>
- Kalyvas, G., Gasparatos, D., Liza, C.A., Massas, I., 2020. Single and combined effect of chelating, reductive agents, and agro-industrial by-product treatments on As, Pb, and Zn mobility in a mine-affected soil over time. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 5536–5546. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07230-3>
- Kang, I.-M., Kong, I.C., 2016. Effects of properties of metal-contaminated soils on bacterial bioluminescence activity, seed germination, and root and shoot growth. *SpringerPlus* 5. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1774-8>
- Kapoor, D., Singh, S., Kumar, V., Romero, R., Prasad, R., Singh, J., 2019. Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Plant Gene* 19, 100182. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2019.100182>
- Karim, Z., Qureshi, B.A., 2014. Health Risk Assessment of Heavy Metals in Urban Soil of Karachi, Pakistan. *Hum. Ecol. Risk Assess. Int. J.* 20, 658–667. <https://doi.org/10.1080/10807039.2013.791535>
- Kaur, H., Goyal, N., 2022. Chapter3 - Biochemical adaptations in plants under heavy metal stress: A revisit to antioxidant defense network, in: Aftab, T., Hakeem, K. (Eds.), *Metals Metalloids Soil Plant Water Systems*. Academic Press, pp. 51–90. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91675-2.00001-9>
- Kebir, T., Bouhadjera, K., 2011. Effects of heavy metals pollution in soil and plant in the industrial area, West Algeria. *J. Korean Chem. Soc.* 55, 1018–1023.
- Khan, A., Khan, S., Khan, M.A., Qamar, Z., Waqas, M., 2015. The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 22, 13772–13799. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4881-0>
- Khanna, K., Jamwal, V.L., Gandhi, S.G., Ohri, P., Bhardwaj, R., 2019. Metal resistant PGPR lowered Cd uptake and expression of metal transporter genes with improved growth and photosynthetic pigments in *Lycopersicon esculentum* under metal toxicity. *Sci. Rep.* 9, 5855. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41899-3>
- Kichu, A., Ajungla, T., Nyenthang, G., Yeptho, L., 2019. Colonial and Morphological Characteristics of Soil Fungi from Jhum Land. *Indian J. Agric. Res.* <https://doi.org/10.18805/IJARE.A-5265>

- Kim, S.-Y., Lim, J.-H., Park, M.-R., Kim, Y.-J., Park, T.-I., Seo, Y.-W., Choi, K.-G., Yun, S.-J., 2005. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *BMB Rep.* 38, 218–224.
- Kim, Y.-O., Bae, H.-J., Cho, E., Kang, H., 2017. Exogenous Glutathione Enhances Mercury Tolerance by Inhibiting Mercury Entry into Plant Cells. *Front. Plant Sci.* 8, 683. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00683>
- Kirchner, S., Arenes, J.-F., Cochet, C., 2006a. Compagne nationale logements : État de la qualité de l'air dans les logements français. (No. DDD/SB-2006-57), Observation de la qualité de l'air intérieur. OQAI.
- Koç, E., Karayiğit, B., 2021. Lipoxygenase activity and antioxidant capacity in pepper (*Capsicum annuum*) exposed to high concentration of copper sulphate. *Environ. Exp. Biol.* 19. <https://doi.org/10.22364/eeb.19.07>
- Kolesnikov, S.I., Kazeev, K.Sh., Val'kov, V.F., 2000. Effects of heavy metal pollution on the ecological and biological characteristics of common chernozem. *Russ. J. Ecol.* 31, 174–181. <https://doi.org/10.1007/BF02762817>
- Krika, A., 2013. Etude de la distribution des métaux lourds dans les ripisylves de l'oued Rhumel.
- Krishnamurthy, P., Wadhvani, A., 2012. Antioxidant Enzymes and Human Health, Antioxidant Enzyme. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/48109>
- Król, A., Mizerna, K., Bożym, M., 2020. An assessment of pH-dependent release and mobility of heavy metals from metallurgical slag. *J. Hazard. Mater.* 384, 121502. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121502>
- Kühnlenz, T., Schmidt, H., Uruguchi, S., Clemens, S., 2014. Arabidopsis thaliana phytochelatase 2 is constitutively active in vivo and can rescue the growth defect of the PCS1-deficient cad1-3 mutant on Cd-contaminated soil. *J. Exp. Bot.* 65, 4241–4253. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru195>
- Kükürt, A., Gelen, V., Başer, Ö.F., Deveci, H.A., Karapehlivan, M., 2021. Thiols: Role in Oxidative Stress-Related Disorders. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96682>
- Kuluev, B., Mikhaylova, E., Berezhneva, Z., Nikonorov, Y., Postrigan, B., Kudoyarova, G., Chemeris, A., 2017. Expression profiles and hormonal regulation of tobacco NtEXGT gene and its involvement in abiotic stress response. *Plant Physiol. Biochem.* 111, 203–215.
- Kurth, J.A., Kier, W.M., 2015. Differences in scaling and morphology between lumbricid earthworm ecotypes. *J. Exp. Biol.* 218, 2970–2978.
- Kurutas, E.B., 2015. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr. J.* 15, 1–22.
- Laib, B., Sbartaï, I., Sbartaï, H., 2020. Responses of a legume (*Cicer arietinum*) to cadmic stress in the presence of two soil fungi. *Stud. Univ. Vasile Goldis Ser. Stiintele Vietii Life Sci. Ser.* 30.
- Lanphear, B.P., Matte, T.D., Rogers, J., Clickner, R.P., Dietz, B., Bornschein, R.L., Succop, P., Mahaffey, K.R., Dixon, S., Galke, W., Rabinowitz, M., Farfel, M., Rohde, C., Schwartz, J., Ashley, P., Jacobs, D.E., 1998. The Contribution of Lead-Contaminated House Dust and Residential Soil to Children's Blood Lead Levels: A Pooled Analysis

- of 12 *Epidemiologic Studies. Environ. Res.* 79, 51–68.
<https://doi.org/10.1006/enrs.1998.3859>
- Laurent, C., Feidt, C., Laurent, F., 2012. Contamination des sols-Transferts des sols vers les animaux: Transferts des sols vers les animaux. EDP Sciences.
- Lauzon, V., 2016. RECOMMANDATIONS POUR L'ADAPTATION DE L'ÉVALUATION DU RISQUE ÉCOTOXICOLOGIQUE POUR LE NORD QUÉBÉCOIS.
- Lavoie, M., Campbell, P., Fortin, C., 2016. Importance de mieux connaître les mécanismes de transport des métaux pour la prédiction de l'accumulation et de la toxicité des métaux dissous chez le phytoplancton : récentes avancées et défis pour le développement du modèle du ligand biotique. *Rev. Sci. L'eau J. Water Sci.* 29, 119–147.
<https://doi.org/10.7202/1036544ar>
- Lenart, A., Wolny-Koładka, K., 2013. The Effect of Heavy Metal Concentration and Soil pH on the Abundance of Selected Microbial Groups Within ArcelorMittal Poland Steelworks in Cracow. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 90, 85–90.
<https://doi.org/10.1007/s00128-012-0869-3>
- Li, G., Lu, N., Wei, Y., Zhu, D., 2018. Relationship between Heavy Metal Content in Polluted Soil and Soil Organic Matter and pH in Mining Areas. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 394, 052081. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/394/5/052081>
- Li, L., Xu, Z., Wu, J., Tian, G., 2010. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresour. Technol.* 101, 3430–3436. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.085>
- Li, X., Wang, M., Jiang, R., Zheng, L., Chen, W., 2020. Evaluation of joint toxicity of heavy metals and herbicide mixtures in soils to earthworms (*Eisenia fetida*). *J. Environ. Sci.*
- Li, X.S., Song, L.L., 2020. The role of ABA in the responses of wild-type and abscisic acid mutants of *Arabidopsis thaliana* to excess zinc. *Acta Physiol. Plant.* 42, 74.
<https://doi.org/10.1007/s11738-020-03067-3>
- Li, Y., Maher, P., Schubert, D., 1997. A Role for 12-lipoxygenase in Nerve Cell Death Caused by Glutathione Depletion. *Neuron* 19, 453–463.
[https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80953-8](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80953-8)
- Lian, M., Wang, L., Feng, Q., Niu, L., Zhao, Z., Wang, P., Song, C., Li, X., Zhang, Z., 2021. Thiol-functionalized nano-silica for in-situ remediation of Pb, Cd, Cu contaminated soils and improving soil environment. *Environ. Pollut.* 280, 116879.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116879>
- Lidsky, T.I., Schneider, J.S., 2006. Adverse effects of childhood lead poisoning: The clinical neuropsychological perspective. *Environ. Res.* 100, 284–293.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2005.03.002>
- Liu, C., Duan, C., Meng, X., Yue, M., Zhang, H., Wang, P., Xiao, Y., Hou, Z., Wang, Y., Pan, Y., 2020. Cadmium pollution alters earthworm activity and thus leaf-litter decomposition and soil properties. *Environ. Pollut.* 267, 115410.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115410>
- Liu, W.-X., Liu, J.-W., Wu, M.-Z., Li, Y., Zhao, Y., Li, S.-R., 2009. Accumulation and Translocation of Toxic Heavy Metals in Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.) Growing in Agricultural Soil of Zhengzhou, China. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 82, 343–347. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9575-6>

- Liu, X., Zhang, S., Shan, X., Christie, P., 2007. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 68, 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.11.001>
- Liu, Y., Wu, H., Kou, L., Liu, X., Zhang, J., Guo, Y., Ma, E., 2014. Two Metallothionein Genes in *Oxya chinensis*: Molecular Characteristics, Expression Patterns and Roles in Heavy Metal Stress. *PLOS ONE* 9, e112759. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112759>
- Llerena, J.P.P., Coasaca, R.L., Rodriguez, H.O.L., Llerena, S.Á.P., Valencia, Y.D., Mazzafera, P., 2021. Metallothionein production is a common tolerance mechanism in four species growing in polluted Cu mining areas in Peru. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 212, 112009. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112009>
- Llorens, E., González-Hernández, A.I., Scalschi, L., Fernández-Crespo, E., Camañes, G., Vicedo, B., García-Agustín, P., 2020. Priming mediated stress and cross-stress tolerance in plants: Concepts and opportunities, in: *Priming-Mediated Stress and Cross-Stress Tolerance in Crop Plants*. Elsevier, pp. 1–20.
- Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E., Navari-Izzo, F., 1999. Antioxidative Defense System, Pigment Composition, and Photosynthetic Efficiency in Two Wheat Cultivars Subjected to Drought. *Plant Physiol.* 119, 1091–1100. <https://doi.org/10.1104/pp.119.3.1091>
- Lorenzon, S., Martinis, M., Ferrero, E.A., 2011. Ecological Relevance of Hemolymph Total Protein Concentration in Seven Unrelated Crustacean Species from Different Habitats Measured Predictively by a Density-Salinity Refractometer. *J. Mar. Biol.* 2011, e153654. <https://doi.org/10.1155/2011/153654>
- Łukasik, I., Wołoch, A., Sytykiewicz, H., Sprawka, I., Goławska, S., 2019. Changes in the content of thiol compounds and the activity of glutathione s-transferase in maize seedlings in response to a rose-grass aphid infestation. *PLOS ONE* 14, e0221160. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221160>
- Lushchak, V.I., 2012. Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions. *J. Amino Acids* 2012, 736837. <https://doi.org/10.1155/2012/736837>
- Lysenko, E.A., Klaus, A.A., Kartashov, A.V., Kusnetsov, V.V., 2020. Specificity of Cd, Cu, and Fe effects on barley growth, metal contents in leaves and chloroplasts, and activities of photosystem I and photosystem II. *Plant Physiol. Biochem.* 147, 191–204. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.12.006>
- M. Mominul, I., Karim, Md.R., Xin, Z., Xiaofang, L., 2018. Heavy Metal and Metalloid Pollution of Soil, Water and Foods in Bangladesh: A Critical Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15. <https://doi.org/10.3390/ijerph15122825>
- Ma, X., Deng, D., Chen, W., 2017. Inhibitors and Activators of SOD, GSH-Px, and CAT, Enzyme Inhibitors and Activators. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/65936>
- Madejón, P., Pérez-de-Mora, A., Burgos, P., Cabrera, F., Lepp, N.W., Madejón, E., 2010. Do amended, polluted soils require re-treatment for sustainable risk reduction?—Evidence from field experiments. *Geoderma* 159, 174–181.

- Mahamood, M., Javed, M., Alhewairini, S.S., Zahir, F., Sah, A.K., Ahmad, M.I., 2021. Labeo rohita, a bioindicator for water quality and associated biomarkers of heavy metal toxicity. *Npj Clean Water* 4, 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41545-021-00107-4>
- Maher, W., Krikowa, F., Foster, S., 2016. Decomposition of six common selenium species found in animal tissues using microwave digestion with nitric acid and ICP-MS. *Microchem. J.* 126, 92–95. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.11.009>
- Maity, S., Roy, S., Chaudhury, S., Bhattacharya, S., 2008. Antioxidant responses of the earthworm *Lampito mauritii* exposed to Pb and Zn contaminated soil. *Environ. Pollut.* 151, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.03.005>
- Malar, S., Shivendra Vikram, S., JC Favas, P., Perumal, V., 2014. Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. *Bot. Stud.* 55, 54. <https://doi.org/10.1186/s40529-014-0054-6>
- Maleki, M., Ghorbanpour, M., Kariman, K., 2017. Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. *Plant Gene* 11, 247–254.
- Manu, M., 2017. Soil invertebrates-an usefull tool in biomonitoring of heavy metal pollution. A review. *Stud. Univ. Vasile Goldis Ser. Stiintele Vietii Life Sci. Ser.* 27.
- Markad, V.L., Gaupale, T.C., Bhargava, S., Kodam, K.M., Ghole, V.S., 2015. Biomarker responses in the earthworm, *Dichogaster curgensis* exposed to fly ash polluted soils. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 118, 62–70.
- Martin, G., 1979. Récolte et préparation des échantillons botaniques en vue de leur identification. *Oléagineux*.
- Mazour, M., Boughalem, M., Mededjel, N., 2008. La gestion de la matière organique et ses effets sur la conservation de la fertilité du sol dans le nord-ouest de l’algérie. *Effic. GCES En Milieux Semi-Arid.* 175–181.
- Mercier, G., Duchesne, J., Carles-Gibergues, A., 2002. A simple and fast screening test to detect soils polluted by lead. *Environ. Pollut. Barking Essex* 1987 118, 285–296. [https://doi.org/10.1016/s0269-7491\(01\)00307-4](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(01)00307-4)
- Miersch, J., Tschimedbalshir, M., Bärlocher, F., Grams, Y., Pierau, B., Schierhorn, A., Krauss, G.-J., 2001. Heavy metals and thiol compounds in *Mucor racemosus* and *Articulospora tetracladia*. *Mycol. Res.* 105, 883–889. <https://doi.org/10.1017/S095375620100404X>
- MINISTERE de l’AMENAGEMENT du TERRITOIRE et de l’ENVIRONNEMENT (MATE), 2006. Projet POP’s – Algérie GF/ALG/02/001/ Plan National de Mise en oeuvre (PNM) ALGERIE – Convention de Stockholm.
- MINISTERE de l’AMENAGEMENT du TERRITOIRE et de l’ENVIRONNEMENT (MATE), 2000. Rapport sur l’état et l’avenir de l’environnement: République Algérienne Démocratique et Populaire.
- Ministère de l’Environnement (MENV). Direction des politiques du secteur industriel. Politique de protection des sols et réhabilitation des terrains contaminés., 1998. . Québec, MENV.
- Ministère du Développement durable, de l’Environnement et des Parcs (MDDEP). Grille des critères applicables aux cas de contamination des eaux souterraines – modifications

- apportées. In MDDEP. Site de la Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés, 2011c.
- Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs (MDDEP). Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés. In MDDEP. Site de la Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés, 2011e.
- Mitsuda, H., Yasumoto, K., Yamamoto, A., 1967. Inactivation of Lipoxygenase by Hydrogen Peroxide, Cysteine and Some Other Reagents. *Agric. Biol. Chem.* 31, 853–860. <https://doi.org/10.1080/00021369.1967.10858886>
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405–410.
- M'kandawire, E., Mierek-Adamska, A., Stürzenbaum, S.R., Choongo, K., Yabe, J., Mwase, M., Saasa, N., Blindauer, C.A., 2017. Metallothionein from Wild Populations of the African Catfish *Clarias gariepinus*: From Sequence, Protein Expression and Metal Binding Properties to Transcriptional Biomarker of Metal Pollution. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 1548. <https://doi.org/10.3390/ijms18071548>
- Mnkandla, S.M., Basopo, N., Siwela, A.H., 2019. The Effect of Persistent Heavy Metal Exposure on Some Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation of the Freshwater snail, *Lymnaea natalensis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 103, 551–558. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02693-z>
- Mo, X., Qiao, Y., Sun, Z., Sun, X., Li, Y., 2012. Molecular toxicity of earthworms induced by cadmium contaminated soil and biomarkers screening. *J. Environ. Sci.* 24, 1504–1510. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(11\)60957-1](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(11)60957-1)
- Mohan, D., Pittman Jr, C.U., Steele, P.H., 2006. Single, binary and multi-component adsorption of copper and cadmium from aqueous solutions on Kraft lignin—a biosorbent. *J. Colloid Interface Sci.* 297, 489–504.
- Mohan, D., Singh, K.P., 2002. Single-and multi-component adsorption of cadmium and zinc using activated carbon derived from bagasse—an agricultural waste. *Water Res.* 36, 2304–2318.
- Momas, I., Caillard, J.-F., Lesaffre, B., 2004. Plan national santé-environnement : Rapport de la Commission d'orientation., La Documentation Française. ed.
- Monchanin, C., Devaud, J.-M., Barron, A.B., Lihoreau, M., 2021. Current permissible levels of metal pollutants harm terrestrial invertebrates. *Sci. Total Environ.* 779, 146398.
- Morel, J.-L., Heinrich, A.B., 2008. SUTMA—soils in urban, industrial, traffic, mining and military areas. *J. Soils Sediments* 8, 206.
- Mosna, K., Jurczak, K., Krężel, A., 2023. Differentiated Zn(II) binding affinities in animal, plant, and bacterial metallothioneins define their zinc buffering capacity at physiological pZn. *Metallomics* 15, mfad061. <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfad061>
- Msimbira, L.A., Smith, D.L., 2020. The Roles of Plant Growth Promoting Microbes in Enhancing Plant Tolerance to Acidity and Alkalinity Stresses. *Front. Sustain. Food Syst.* 4, 106. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00106>
- Munné-Bosch, S., 2005. The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *J. Plant Physiol.* 162, 743–748.

- Murphy, P.A., 2008. 8 - Soybean Proteins, in: Johnson, L.A., White, P.J., Galloway, R. (Eds.), Soybeans. AOCS Press, pp. 229–267. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-64-6.50011-1>
- MVAD - Cirad, 2019. Prélever un échantillon de sol pour l'analyse au laboratoire.
- Nadgórska-Socha, A., Kafel, A., Kandziora-Ciupa, M., Gospodarek, J., Zawisza-Raszka, A., 2013. Accumulation of heavy metals and antioxidant responses in *Vicia faba* plants grown on monometallic contaminated soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 1124–1134. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1191-7>
- Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., Sreekanth, T.V.M., 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ. Chem. Lett.* 8, 199–216. <https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
- Nagamani, A., 2006. Handbook of Soil Fungi. I K International Publishing House, New Delhi.
- Nalovic, L., Gavinelli, E., collab., Pétard, J., collab., 1968a. Les méthodes d'analyses des sols et des eaux utilisées au Laboratoire du Centre d'Adiopodoumé 124.
- Nalovic, L., Gavinelli, E., collab., Pétard, J., collab., 1968b. Les méthodes d'analyses des sols et des eaux utilisées au Laboratoire du Centre d'Adiopodoumé 124.
- Namdjoyan, S., Kermanian, H., Soorki, A.A., TABATABAEI, S.M., Elyasi, N., 2018. Effects of exogenous salicylic acid and sodium nitroprusside on α -tocopherol and phytochelatin biosynthesis in zinc-stressed safflower plants. *Turk. J. Bot.* 42, 271–279.
- Nayak, A.K., Panda, S.S., Basu, A., Dhal, N.K., 2018. Enhancement of toxic Cr (VI), Fe, and other heavy metals phytoremediation by the synergistic combination of native *Bacillus cereus* strain and *Vetiveria zizanioides* L. *Int. J. Phytoremediation* 20, 682–691. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1413332>
- Nayak, S., Mishra, C.S.K., Guru, B.C., Samal, S., 2018. Histological anomalies and alterations in enzyme activities of the earthworm *Glyphidrilus tuberosus* exposed to high concentrations of phosphogypsum. *Environ. Monit. Assess.* 190, 529. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6933-7>
- Nedjimi, B., 2018. Heavy Metal Tolerance in Two Algerian Saltbushes: A Review on Plant Responses to Cadmium and Role of Calcium in Its Mitigation, in: Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Oku, H., Nahar, K., Hawrylak-Nowak, B. (Eds.), *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*. Springer, Singapore, pp. 205–220. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_9
- Neina, D., 2019. The Role of Soil pH in Plant Nutrition and Soil Remediation. *Appl. Environ. Soil Sci.* 2019, e5794869. <https://doi.org/10.1155/2019/5794869>
- NF EN ISO 7730 [WWW Document], 2006. URL <https://www.boutique.afnor.org/norme/nf-en-iso-7730/ergonomie-des-ambiances-thermiques-determination-analytique-et-interpretation-du-confort-thermique-par-le-calcul-des-indices-pmv/article/649818/fa119159> (accessed 11.12.19).
- Ni, M., Mao, R., Jia, Z., Dong, R., Li, S., 2018. Heavy metals in soils of Hechuan County in the upper Yangtze (SW China): Comparative pollution assessment using multiple indices with high-spatial-resolution sampling. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 148, 644–651. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.009>

- Noguchi, N., Yamashita, H., Nakamura, A., Kühn, H., 2002. The specificity of lipoxygenase-catalyzed lipid peroxidation and the effects of radical-scavenging antioxidants. *Biol. Chem.* 383, 619–626. <https://doi.org/10.1515/bc.2002.064>
- Noubissié, E., 2015. Spéciation des composés organométalliques (Hg, Sn, Pb) dans les sols des cultures maraîchères et dans trois espèces de plantes cultivées à Ngaoundéré (Cameroun) (PhD Thesis). Pau.
- Nouri, J., Khorasani, N., Lorestani, B., Karami, M., Hassani, A.H., Yousefi, N., 2009. Accumulation of heavy metals in soil and uptake by plant species with phytoremediation potential. *Environ. Earth Sci.* 59, 315–323. <https://doi.org/10.1007/s12665-009-0028-2>
- Nzengué, E., Lepengué, A.N., Mbeang, B.A.M., Mombo, S., Ontod, T.D.S., Mokéa, A., Mavoungou, J.P., Ngomanda, A., Midoko, I.D., M'batchi, B., 2019. Effets des terrils de manganèse de la mine de Moanda (Gabon) sur quelques caractères morphométriques de l'Arachide (*Arachis hypogea* L.). *Eur. J. Sci. Res.* 153, 335–352.
- Odjegba, V.J., Fasidi, I.O., 2007. Changes in antioxidant enzyme activities in *Eichhornia crassipes* (Pontederiaceae) and *Pistia stratiotes* (Araceae) under heavy metal stress. *Rev. Biol. Trop.* 55, 815–823.
- Oh, N.-H., Richter, D.D., 2004. Soil acidification induced by elevated atmospheric CO₂. *Glob. Change Biol.* 10, 1936–1946. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2004.00864.x>
- OMS, 2012. Utilisation sans risque des eaux usées, des excreta et des eaux ménagères.
- OMS, 2006. Lignes directrices OMS relatives à la qualité de l'air – mise à jour mondiale 2005 [WWW Document]. WHO. URL www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0009/128169/e94535.pdf (accessed 11.12.19).
- Oteiza, P.I., 2012. Zinc and the modulation of redox homeostasis. *Free Radic. Biol. Med.* 53, 1748–1759. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.568>
- Otmani, H., Tadjine, A., Moumeni, O., Zeriri, I., Amamra, R., Samira, D.B., Djebbar, M.R., Berrebbah, H., 2018a. Biochemical responses of the earthworm *Allolobophora caliginosa* exposed to cadmium contaminated soil in the Northeast of Algeria. *Bull. Société R. Sci. Liège*.
- Otmani, H., Tadjine, A., Moumeni, O., Zeriri, I., Amamra, R., Samira, D.B., Djebbar, M.R., Berrebbah, H., 2018b. Biochemical responses of the earthworm *Allolobophora caliginosa* exposed to cadmium contaminated soil in the Northeast of Algeria. *Bull. Société R. Sci. Liège*.
- Outa, J.O., Kowenje, C.O., Plessl, C., Jirsa, F., 2020. Distribution of arsenic, silver, cadmium, lead and other trace elements in water, sediment and macrophytes in the Kenyan part of Lake Victoria: spatial, temporal and bioindicative aspects. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 1485–1498. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06525-9>
- Outron, C., Veyseyre, A., Ferrari, C., Elichegaray, C., Ebner, P., 2016. Flux de dépôt de métaux lourds sur le manteau neigeux alpin français au cours des hivers 1997-1998 et 1998-1999 Méthodologie et résultats préliminaires. <http://dx.doi.org/10.4267/pollution-atmospherique.3178>
- Pal, R., Kaur, R., Rajwar, D., Narayan Rai, J.P., 2019. Induction of non-protein thiols and phytochelatins by cadmium in *Eichhornia crassipes*. *Int. J. Phytoremediation* 21, 790–798. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1566881>

- Pandey, G., Madhuri, S., 2014. Heavy metals causing toxicity in animals and fishes. Res. J. Anim. Vet. Fish. Sci. 2, 17–23.
- Papafilippaki, A.K., Kotti, M.E., Stavroulakis, G.G., 2008. Seasonal variations in dissolved heavy metals in the Keritis River, Chania, Greece. Glob. Nest Int. J. 10, 320–325.
- Parihar, K., Kumar, R., Sankhla, M.S., 2019. Impact of Heavy Metals on Survivability of Earthworms. Int. Medico-Leg. Report. J. 2.
- Park, J.H., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N., Chung, J.-W., 2011. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. J. Hazard. Mater. 185, 549–574.
- Parvaiz, A., Satyawati, S., 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants-a review. Plant Soil Environ. 54, 89.
- Paunov, M., Koleva, L., Vassilev, A., Vangronsveld, J., Goltsev, V., 2018. Effects of Different Metals on Photosynthesis: Cadmium and Zinc Affect Chlorophyll Fluorescence in Durum Wheat. Int. J. Mol. Sci. 19, 787. <https://doi.org/10.3390/ijms19030787>
- Perl-Treves, R., Perl, A., 2002. Oxidative Stress: An introduction in Inzé, D. and Van Montagu M.(eds). Oxidative stress in plants. London: Taylor & Francis.
- Pirbadali-Somarin, A., Peyghambarzadeh, S.M., 2020. Air pollution by heavy metals from petrochemical incinerators: measurement and dispersion modelling. Environ. Eng. Manag. J. 19, 379–390.
- Pires, C., 2010. Bacteria in heavy metal contaminated soil: diversity, tolerance and use in remediation.
- Pivato, M., Fabrega-Prats, M., Masi, A., 2014. Low-molecular-weight thiols in plants: functional and analytical implications. Arch. Biochem. Biophys. 560, 83–99. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.07.018>
- Poirier, L., Ghigo, É., Daudé, D., Chabrière, É., 2019. Modèles alternatifs (6) - La planaire, un modèle animal original pour la toxicologie. médecine/sciences 35, 544–548. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019110>
- Pokorska-Niewiada, K., Rajkowska-Myśliwiec, M., Protasowicki, M., 2018. Acute Lethal Toxicity of Heavy Metals to the Seeds of Plants of High Importance to Humans. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 101, 222–228. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2382-9>
- Pongrac, P., Zhao, F.-J., Razinger, J., Zrimec, A., Regvar, M., 2009. Physiological responses to Cd and Zn in two Cd/Zn hyperaccumulating *Thlaspi* species. Environ. Exp. Bot. 66, 479–486.
- Pourrut, B., 2008. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba* (PhD Thesis).
- Prado, C., Chocobar-Ponce, S., Pagano, E., Prado, F., Rosa, M., 2021. Differential effects of Zn concentrations on Cr(VI) uptake by two *Salvinia* species: involvement of thiol compounds. Int. J. Phytoremediation 23, 10–17. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1786796>
- Présent, R., 2018. Biodisponibilité et dynamique de partition de métaux traces aux interphases microbiennes: effets de complexation intracellulaire et application aux biosenseurs bactériens (PhD Thesis).

- Qasim, B.H., 2015. Détermination, spéciation et biodisponibilité des éléments traces métalliques dans les sols contaminés et technosols (PhD Thesis).
- Qaswar, M., Yiren, L., Jing, H., Kaillou, L., Mudasir, M., Zhenzhen, L., Hongqian, H., Xianjin, L., Jianhua, J., Ahmed, W., Dongchu, L., Huimin, Z., 2020. Soil nutrients and heavy metal availability under long-term combined application of swine manure and synthetic fertilizers in acidic paddy soil. *J. Soils Sediments* 20, 2093–2106. <https://doi.org/10.1007/s11368-020-02576-5>
- Rakotomanga, D., Blanchart, E., Rabary, B., Randriamanantsoa, R., Malalatiana, R., Autfray, P., 2016. Crop management and soil macrofauna diversity in the Highlands of Madagascar 20, 495–507.
- Ramade, F., 2000. Dictionnaire encyclopédique des pollutions: les polluants: de l'environnement à l'homme. Ediscience international.
- Ranieri, A., Castagna, A., Scebba, F., Careri, M., Zagnoni, I., Predieri, G., Pagliari, M., di Toppi, L.S., 2005. Oxidative stress and phytochelatin characterisation in bread wheat exposed to cadmium excess. *Plant Physiol. Biochem. PPB* 43, 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.12.004>
- Rasheed, T., Bilal, M., Nabeel, F., Adeel, M., Iqbal, H.M.N., 2019. Environmentally-related contaminants of high concern: Potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. *Environ. Int.* 122, 52–66. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.038>
- Reddy, K.R., DeLaune, R.D., 2008. Biogeochemistry of wetlands: science and applications. CRC press.
- Redjala, T., 2009. Etude de l'absorption racinaire du cadmium afin d'améliorer la modélisation de son transfert vers les plantes (PhD Thesis).
- Rejeb, I.B., Pastor, V., Mauch-Mani, B., 2014. Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants* 3, 458–475.
- Remans, T., Opdenakker, K., Smeets, K., Mathijssen, D., Vangronsveld, J., Cuypers, A., Remans, T., Opdenakker, K., Smeets, K., Mathijssen, D., Vangronsveld, J., Cuypers, A., 2010. Metal-specific and NADPH oxidase dependent changes in lipoxygenase and NADPH oxidase gene expression in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium or excess copper. *Funct. Plant Biol.* 37, 532–544. <https://doi.org/10.1071/FP09194>
- Remon, E., 2006. Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques: vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution (PhD Thesis).
- Remon, E., Bouchardon, J.-L., Cornier, B., Guy, B., Leclerc, J.-C., Faure, O., 2005. Soil characteristics, heavy metal availability and vegetation recovery at a former metallurgical landfill: Implications in risk assessment and site restoration. *Environ. Pollut.* 137, 316–323.
- Renu, R.K., Kumar, R., Kaur, T., 2020. Eco-toxic effects of lead and nickel on survivability, reproduction and growth of earthworm (*Eudrilus eugeniae*).
- Ribaucourt, H. de, 1901. Les nephrocytes. *Soc BiolParis Compt Rend* 53, 43–45.
- Robert-Nadeau, F., Van Coillie, M.R., 2012. ÉVALUATION DES RISQUES TOXICOLOGIQUES ET ÉCOTOXICOLOGIQUES D'UN TERRAIN CONTAMINÉ PAR DES MÉTAUX.

- Robidas, M., 2011. Évaluation du potentiel de risques toxicologiques et écotoxicologiques de teneurs naturelles en métaux dans les Appalaches et les Basses-Terres au Québec. éditeur non identifié.
- Rocha, A.C.S., Cavenati, S., Vasconcelos, M.T.S.D., Basto, M.C.P., Almeida, C.M.R., 2018. Metal Accumulation in Estuarine Plants: Investigating the Effect on the Levels of Non-protein Thiols in Roots of Different Salt Marsh Plants, in: Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M. (Eds.), *Plants Under Metal and Metalloid Stress: Responses, Tolerance and Remediation*. Springer, Singapore, pp. 185–205. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2242-6_6
- Römbke, J., Jansch, S., Didden, W., 2005. The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, Includes Special Issue: ECOLOGICAL SOIL QUALITY 62, 249–265. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.03.027>
- Ruttkay-Nedecky, B., Nejdil, L., Gumulec, J., Zitka, O., Masarik, M., Eckschlager, T., Stiborova, M., Adam, V., Kizek, R., 2013. The Role of Metallothionein in Oxidative Stress. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 6044–6066. <https://doi.org/10.3390/ijms14036044>
- Sachdev, S., Ansari, S.A., Ansari, M.I., Fujita, M., Hasanuzzaman, M., 2021. Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. *Antioxidants* 10, 277. <https://doi.org/10.3390/antiox10020277>
- Sadrabad, S.J., Alimohammadi, M., Dehghani, M.H., Yaghmaeian, K., Rasoulzadeh, H., Jafari, A., 2020. Determination of heavy metals (cadmium and lead) concentrations, pH, and electrical conductivity in agricultural soils of Khatam city and zoning using the GIS software. *Arch. Pharm. Pract.* 1, 190.
- Samal, S., Mishra, C.S.K., Sahoo, S., 2020. Dermal, histological anomalies with variations in enzyme activities of the earthworms *Lampito mauritii* and *Drawida willsi* after short term exposure to organophosphate pesticides. *Invertebr. Surviv. J.* 117–128. <https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v0i0.117-128>
- Sanou, A., Coulibaly, S., ATSE, B.C., 2020. Évaluation de la capacité de fixation des métaux lourds par les sédiments d'une ferme piscicole en étang. *Afr. Sci.* 16, 85–97.
- Santé Canada (SC). Paramètres chimiques/physiques. In SC. Santé de l'environnement et du milieu de travail : Qualité de l'eau - Rapports et publications, 1992c.
- Sato, M., Kondoh, M., 2002. Recent studies on metallothionein: protection against toxicity of heavy metals and oxygen free radicals. *Tohoku J. Exp. Med.* 196, 9–22.
- Savigny, J.C., 1826. Analyses des travaux de l'Académie Royale des Sciences pendant l'année 1821, partie physique. *Cuvier M Baron G* 176–184.
- Sbartai, H., Djebbar, M.R., Sbartai, I., Berrabbah, H., 2012. Bioaccumulation of Cadmium and Zinc in Tomato (*Lycopersicon Esculentum* L.). *C. R. Biol.* 335, 585–593.
- Sbartai, H., Rouabhi, R., Sbartai, I., Berrebbah, H., Djebbar, M.-R., 2008a. Induction of anti-oxidative enzymes by cadmium stress in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Afr. J. Plant Sci.* 2, 072–076.
- Sbartai, H., Rouabhi, R., Sbartai, I., Berrebbah, H., Djebbar, M.-R., 2008b. Induction of anti-oxidative enzymes by cadmium stress in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Afr. J. Plant Sci.* 2, 072–076.

- Scheiner, J.D., 2005. Spéciation du Carbone, de l'Azote et du Phosphore de différentes boues de stations d'épuration au cours de leurs incubations contrôlées dans deux types de sol (PhD Thesis).
- Schewe, T., 2002. 15-Lipoxygenase-1: A Prooxidant Enzyme 383, 365–374. <https://doi.org/10.1515/BC.2002.041>
- Schiffman, S.S., Studwell, C.E., Landerman, L.R., Berman, K., Sundry, J.S., 2005. Symptomatic effects of exposure to diluted air sampled from a swine confinement atmosphere on healthy human subjects. *Environ. Health Perspect.* 113, 567–576. <https://doi.org/10.1289/ehp.6814>
- Schneider, A., 2016. Comportement et mobilité des éléments traces métalliques dans des sols environnant une usine de seconde fusion du plomb. Approches expérimentales et modélisation. (PhD Thesis). Reims.
- Schreck, E., Geret, F., Gontier, L., Treilhou, M., 2009. ChE, GST and CAT: Evaluation of the efficiency of a combined buffer for protein extraction. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 1609–1613. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.12.013>
- Sethy, S.K., Ghosh, S., 2013. Effect of heavy metals on germination of seeds. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* 4, 272–275. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.116964>
- Sevcikova, M., Modra, H., Slaninova, A., Svobodova, Z., 2011. Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. *Vet Med* 56, 537–546.
- Shacklette, H.T., Boerngen, J.G., 1984. Professional Paper 1270. *Elem. Conc. Soils Surficial Mater. Conterminous U. S.* 105.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M., 2012a. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* 2012.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M., 2012b. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* 2012.
- Sheehan, D., MEADE, G., FOLEY, V.M., DOWD, C.A., 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem. J.* 360, 1–16.
- Sheng, Y., Liu, Y., Wang, K., Cizdziel, J.V., Wu, Y., Zhou, Y., 2021. Ecotoxicological effects of micronized car tire wear particles and their heavy metals on the earthworm (*Eisenia fetida*) in soil. *Sci. Total Environ.* 793, 148613. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148613>
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., Yoshimura, K., 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.* 53, 1305–1319. <https://doi.org/10.1093/jxb/53.372.1305>
- Sidhu, G.P.S., Bali, A.S., 2021. Chapter 9 - Thiol-dependent metal hyperaccumulation and tolerance in plants, in: Hasanuzzaman, M., Prasad, M.N.V. (Eds.), *Handbook of Bioremediation*. Academic Press, pp. 153–164. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819382-2.00009-0>
- Sies, H., 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol. Transl. Integr.* 82, 291–295.

- Sinaei, M., Loghmani, M., Bolouki, M., 2018. Application of biomarkers in brown algae (*Cystoseria indica*) to assess heavy metals (Cd, Cu, Zn, Pb, Hg, Ni, Cr) pollution in the northern coasts of the Gulf of Oman. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 164, 675–680. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.074>
- Singh, 2015. PRINCIPLES OF SOIL PHYSICS PBD SOIL CONSERVATION. SR. SCIENTIFIC.
- Singh, P., Singh, V.K., Singh, R., Borthakur, A., Madhav, S., Ahamad, A., Kumar, A., Pal, D.B., Tiwary, D., Mishra, P.K., 2020. Chapter 1 - Bioremediation: a sustainable approach for management of environmental contaminants, in: Singh, P., Kumar, A., Borthakur, A. (Eds.), *Abatement of Environmental Pollutants*. Elsevier, pp. 1–23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818095-2.00001-1>
- Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., Gupta, R., 2011. Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J. Pharmacol.* 43, 246–253. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.81505>
- Singh, S., Sinha, S., Saxena, R., Pandey, K., Bhatt, K., 2004. Translocation of metals and its effects in the tomato plants grown on various amendments of tannery waste: evidence for involvement of antioxidants. *Chemosphere* 57, 91–99.
- Sirven, J.-B., 2006. Détection de métaux lourds dans les sols par spectroscopie d'émission sur plasma induit par laser (LIBS) (phdthesis). Université Sciences et Technologies - Bordeaux I.
- Sisein, E.A., 2014. Biochemistry of free radicals and antioxidants. *Sch. Acad. J. Biosci.* 2, 110–118.
- Skórzyńska-Polit, E., 2007. Lipid peroxidation in plant cells, its physiological role and changes under heavy metal stress. *Acta Soc. Bot. Pol.* 76, 49–54. <https://doi.org/10.5586/asbp.2007.006>
- Skórzyńska-Polit, E., Pawlikowska-Pawłęga, B., Szczuka, E., Drażkiewicz, M., Krupa, Z., 2006a. The activity and localization of lipoxygenases in *Arabidopsis thaliana* under cadmium and copper stresses. *Plant Growth Regul.* 48, 29–39.
- Skórzyńska-Polit, E., Pawlikowska-Pawłęga, B., Szczuka, E., Drażkiewicz, M., Krupa, Z., 2006b. The Activity and Localization of Lipoxygenases in *Arabidopsis thaliana* under Cadmium and Copper Stresses. *Plant Growth Regul.* 48, 29–39. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-4745-6>
- Smirnoff, N., 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 229–235.
- Soltan, M.E., Rashed, M.N., 2003. Laboratory study on the survival of water hyacinth under several conditions of heavy metal concentrations. *Adv. Environ. Res.* 7, 321–334.
- Souri, Z., Karimi, N., Ahmad, P., 2021. The effect of NADPH oxidase inhibitor diphenyleiodonium (DPI) and glutathione (GSH) on *Isatis cappadocica*, under Arsenic (As) toxicity. *Int. J. Phytoremediation* 23, 945–957. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1870435>
- Šrut, M., Menke, S., Höckner, M., Sommer, S., 2019. Earthworms and cadmium–Heavy metal resistant gut bacteria as indicators for heavy metal pollution in soils? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 171, 843–853.

- Stoffers, P., Glasby, G.P., Wilson, C.J., Davis, K.R., Walter, P., 1986. Heavy metal pollution in Wellington Harbour. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 20, 495–512. <https://doi.org/10.1080/00288330.1986.9516169>
- Stolt, J.P., Sneller, F.E.C., Bryngelsson, T., Lundborg, T., Schat, H., 2003. Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat. *Environ. Exp. Bot.* 49, 21–28. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(02\)00045-X](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00045-X)
- Su, H., Zou, T., Lin, R., Zheng, J., Jian, S., Zhang, M., 2020. Characterization of a phytochelatin synthase gene from *Ipomoea pes-caprae* involved in cadmium tolerance and accumulation in yeast and plants. *Plant Physiol. Biochem.* 155, 743–755. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.012>
- Sun, Q., Wang, X.-R., Ding, S.-M., Yuan, X.-F., 2005. Effects of Interaction Between Cadmium and Plumbum on Phytochelatins and Glutathione Production in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Integr. Plant Biol.* 47, 435–442. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2005.00073.x>
- Suthar, S., Singh, S., Dhawan, S., 2008. Earthworms as bioindicator of metals (Zn, Fe, Mn, Cu, Pb and Cd) in soils: Is metal bioaccumulation affected by their ecological category? *Ecol. Eng.* 32, 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2007.10.003>
- Świątek, Z.M., Bednarska, A.J., 2019. Energy reserves and respiration rate in the earthworm *Eisenia andrei* after exposure to zinc in nanoparticle or ionic form. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, 24933–24945. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05753-3>
- Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., Kuczynska, P., Strzałka, K., Prasad, M.N.V., 2013. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta Physiol. Plant.* 35, 985–999. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1169-6>
- Szalai, G., Tajti, J., Hamow, K.Á., Ildikó, D., Khalil, R., Vanková, R., Dobrev, P., Misheva, S.P., Janda, T., Pál, M., 2020. Molecular background of cadmium tolerance in Rht dwarf wheat mutant is related to a metabolic shift from proline and polyamine to phytochelatin synthesis. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 23664–23676. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08661-z>
- Tahoon, M.A., Siddeeg, S.M., Salem Alsaiari, N., Mnif, W., Ben Rebah, F., 2020. Effective Heavy Metals Removal from Water Using Nanomaterials: A Review. *Processes* 8, 645. <https://doi.org/10.3390/pr8060645>
- Talebi, M., Tabatabaei, B.E.S., Akbarzadeh, H., 2019. Hyperaccumulation of Cu, Zn, Ni, and Cd in *Azolla* species inducing expression of methallothionein and phytochelatin synthase genes. *Chemosphere* 230, 488–497. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.098>
- Tamás, M.J., Sharma, S.K., Ibstedt, S., Jacobson, T., Christen, P., 2014. Heavy Metals and Metalloids As a Cause for Protein Misfolding and Aggregation. *Biomolecules* 4, 252–267. <https://doi.org/10.3390/biom4010252>
- Tardy, Y., 1966. Mobilité relative des éléments au cours des phénomènes d'altération de quelques roches cristallines. *Sci. Géologiques Bull. Mém.* 19, 255–270. <https://doi.org/10.3406/sgeol.1966.1310>

- Tariq, S.R., Shafiq, M., Chotana, G.A., 2016. Distribution of Heavy Metals in the Soils Associated with the Commonly Used Pesticides in Cotton Fields. *Scientifica* 2016, 7575239. <https://doi.org/10.1155/2016/7575239>
- Tausz, M., Gullner, G., Kömives, T., Grill, D., 2003. The Role of Thiols in Plant Adaptation to Environmental Stress. *Sulphur Plants* 221–244. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0289-8_12
- Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K., Sutton, D.J., 2012. Heavy Metals Toxicity and the Environment. *EXS* 101, 133–164. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- Thangavel, P., Long, S., Minocha, R., 2007. Changes in phytochelatins and their biosynthetic intermediates in red spruce (*Picea rubens* Sarg.) cell suspension cultures under cadmium and zinc stress. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 88, 201–216. <https://doi.org/10.1007/s11240-006-9192-1>
- Thompson, M., Walsh, J.N., 1989. Analysis of metals by ICP-AES, in: Thompson, M., Walsh, J.N. (Eds.), *Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectrometry*. Springer US, Boston, MA, pp. 270–286. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0697-9_12
- Tissot, S., Lafon, D., 2006. Seuils de toxicité aiguë utilisés lors d'émissions atmosphériques accidentelles de produits chimiques. *Arch. Mal. Prof. Environ.* 67, 870–876. [https://doi.org/10.1016/S1775-8785\(06\)70492-1](https://doi.org/10.1016/S1775-8785(06)70492-1)
- Tremel-Schaub, A., Feix, I., 2005a. Contamination des sols: transferts des sols vers les plantes. L'Editeur: EDP Sciences.
- Tremel-Schaub, A., Feix, I., 2005b. Contamination des sols: transferts des sols vers les plantes. EDP Sciences.
- Triffault-Bouchet, G., Martel, L., SANEXEN inc, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2011. Valeurs de référence pour les récepteurs terrestres. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Québec.
- Truchet, D.M., Buzzi, N.S., Negro, C.L., Mora, M.C., Marcovecchio, J.E., 2021. Integrative assessment of the ecological risk of heavy metals in a South American estuary under human pressures. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 208, 111498.
- ur Rahman, S., Xuebin, Q., Zhao, Z., Du, Z., Imtiaz, M., Mehmood, F., Hongfei, L., Hussain, B., Ashraf, M.N., 2021. Alleviatory effects of Silicon on the morphology, physiology, and antioxidative mechanisms of wheat (*Triticum aestivum* L.) roots under cadmium stress in acidic nutrient solutions. *Sci. Rep.* 11, 1958. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80808-x>
- Uraguchi, S., Nagai, K., Naruse, F., Otsuka, Y., Ohshiro, Y., Nakamura, R., Takanezawa, Y., Kiyono, M., 2021. Development of affinity beads-based in vitro metal-ligand binding assay reveals dominant cadmium affinity of thiol-rich small peptides phytochelatins beyond glutathione. <https://doi.org/10.1101/2021.08.23.456032>
- Uwizeyimana, H., Wang, M., Chen, W., Khan, K., 2017. The eco-toxic effects of pesticide and heavy metal mixtures towards earthworms in soil. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 55, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.08.001>
- Valcke, M., Buteau, S., Belleville, D., Phaneuf, D., Bourgault, M.H., Nantel, A., 2012a. Lignes directrices pour la réalisation des évaluations du risque toxicologique d'origine

- environnementale au Québec. Inst. Natl. Santé Publique Qué. Inst. Natl. Santé Publique Qué.
- Valcke, M., Buteau, S., Belleville, D., Phaneuf, D., Bourgault, M.H., Nantel, A., 2012b. Lignes directrices pour la réalisation des évaluations du risque toxicologique d'origine environnementale au Québec. Inst. Natl. Santé Publique Qué. Inst. Natl. Santé Publique Qué.
- Valko, M., Morris, H., Cronin, M.T.D., 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* 12, 1161–1208. <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>
- Vamerli, T., Bandiera, M., Mosca, G., 2010. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environ. Chem. Lett.* 8, 1–17.
- Vasile, G.-G., Tenea, A.-G., Dinu, C., Iordache, A.M.M., Gheorghe, S., Mureseanu, M., Pascu, L.F., 2021. Bioavailability, Accumulation and Distribution of Toxic Metals (As, Cd, Ni and Pb) and Their Impact on *Sinapis alba* Plant Nutrient Metabolism. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 18, 12947. <https://doi.org/10.3390/ijerph182412947>
- Vaulont, S., 2017. Métabolisme du fer. *Arch. Pédiatrie, Carence martiale* 24, 5S32-5S39. [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(17\)24007-X](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(17)24007-X)
- Viard-La Rocca, B., 2004. Mise au point et validation sur sites contaminés (ETM-HAP) d'un test de biosurveillance en microcosme: croissance et bioaccumulation par gastéropode terrestre *Helix Aspersa Aspersa* (PhD Thesis).
- Viarengo, A., Ponzano, E., Dondero, F., Fabbri, R., 1997. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Mar. Environ. Res.* 44, 69–84. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(96\)00103-1](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(96)00103-1)
- Vidayanti, V., Permatasari, G.W., 2020. The Role of Phytochelatin Synthase in Phytoremediation Agent: Structural Conservation of Phytochelatin (PC) Synthase to Maintain Its Activity as Heavy Metal Detoxification in Plant. *BIOINFORMATICS* 3, 9–14.
- Viehweger, K., 2014. How plants cope with heavy metals. *Bot. Stud.* 55, 35. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-55-35>
- Viswanath, K.K., Varakumar, P., Pamuru, R.R., Basha, S.J., Mehta, S., Rao, A.D., 2020. Plant Lipxygenases and Their Role in Plant Physiology. *J. Plant Biol.* 63, 83–95. <https://doi.org/10.1007/s12374-020-09241-x>
- Vranken, I., 2010. Pollution et contamination des sols aux métaux lourds dues à l'industrie métallurgique à Lubumbashi: Empreinte écologique, impact paysager, pistes de gestion (Travail de fin d'étude). Université Libre de Bruxelles.
- Waksman, S.A., 1922. A Method for Counting the Number of Fungi in the Soil. *J. Bacteriol.* 7, 339–341.
- Walkley, A., Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37, 29–38.
- Wang, H., Li, J., Follett, P.L., Zhang, Y., Cotanche, D.A., Jensen, F.E., Volpe, J.J., Rosenberg, P.A., 2004. 12-Lipoxygenase plays a key role in cell death caused by glutathione depletion and arachidonic acid in rat oligodendrocytes. *Eur. J. Neurosci.* 20, 2049–2058. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03650.x>

- Wang, K., Qiao, Y., Zhang, H., Yue, S., Li, H., Ji, X., Liu, L., 2018. Bioaccumulation of heavy metals in earthworms from field contaminated soil in a subtropical area of China. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 148, 876–883. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.058>
- Wang, L., Han, Z., Zhang, X., 2010. Effects of soil pH on CO₂ emission from long-term fertilized black soils in northeastern China. *Sci Res* 2010, 58–61.
- Wang, L.K., Chen, J.P., Hung, Y.-T., Shammas, N.K., 2009. Heavy metals in the environment. CRC press.
- Wang, M., Song, H., Chen, W.-Q., Lu, C., Hu, Q., Ren, Z., Yang, Y., Xu, Y., Zhong, A., Ling, W., 2011. Cancer mortality in a Chinese population surrounding a multi-metal sulphide mine in Guangdong province: an ecologic study. *BMC Public Health* 11, 1–15.
- Wang, Q.-R., Cui, Y.-S., Liu, X.-M., Dong, Y.-T., Christie, P., 2003. Soil Contamination and Plant Uptake of Heavy Metals at Polluted Sites in China. *J. Environ. Sci. Health Part A* 38, 823–838. <https://doi.org/10.1081/ESE-120018594>
- Wang, Y., Chen, C., Qian, Y., Zhao, X., Wang, Q., 2015. Ternary toxicological interactions of insecticides, herbicides, and a heavy metal on the earthworm *Eisenia fetida*. *J. Hazard. Mater.* 284, 233–240. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.11.017>
- Wassmann, S., Wassmann, K., Nickenig, G., 2004. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension* 44, 381–386.
- Weckbecker, G., Cory, J.G., 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Lett.* 40, 257–264. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(88\)90084-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(88)90084-5)
- Weerakoon, S.R., 2019. Chapter 2 - Genetic Engineering for Metal and Metalloid Detoxification, in: Prasad, M.N.V. (Ed.), *Transgenic Plant Technology for Remediation of Toxic Metals and Metalloids*. Academic Press, pp. 23–41. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814389-6.00002-X>
- Wei, B., Yu, J., Cao, Z., Meng, M., Yang, L., Chen, Q., 2020. The Availability and Accumulation of Heavy Metals in Greenhouse Soils Associated with Intensive Fertilizer Application. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 17, 5359. <https://doi.org/10.3390/ijerph17155359>
- Wu, B., Qiao, J., Wang, X., Liu, M., Xu, S., Sun, D., 2021. Factors affecting the rapid changes of protein under short-term heat stress. *BMC Genomics* 22, 263. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07560-y>
- Wu, J., Ren, Z., Zhang, C., Motelica-Heino, M., Deng, T., Wang, H., Dai, J., 2020. Effects of soil acid stress on the survival, growth, reproduction, antioxidant enzyme activities, and protein contents in earthworm (*Eisenia fetida*). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 33419–33428. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04643-y>
- Xiang, C., Werner, B.L., E'Lise, M.C., Oliver, D.J., 2001. The biological functions of glutathione revisited in *Arabidopsis* transgenic plants with altered glutathione levels. *Plant Physiol.* 126, 564–574.
- Xiao, R., Ali, A., Xu, Y., Abdelrahman, H., Li, R., Lin, Y., Bolan, N., Shaheen, S.M., Rinklebe, J., Zhang, Z., 2022. Earthworms as candidates for remediation of potentially toxic elements contaminated soils and mitigating the environmental and human health

- risks: A review. *Environ. Int.* 158, 106924. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106924>
- Xie, Y., Fan, J., Zhu, W., Amombo, E., Lou, Y., Chen, L., Fu, J., 2016. Effect of Heavy Metals Pollution on Soil Microbial Diversity and Bermudagrass Genetic Variation. *Front. Plant Sci.* 7, 755. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00755>
- Xiong, Y.L., Guo, A., 2021. Animal and Plant Protein Oxidation: Chemical and Functional Property Significance. *Foods* 10, 40. <https://doi.org/10.3390/foods10010040>
- Xu, D., Shen, Z., Dou, C., Dou, Z., Li, Y., Gao, Y., Sun, Q., 2022. Effects of soil properties on heavy metal bioavailability and accumulation in crop grains under different farmland use patterns. *Sci. Rep.* 12, 9211. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13140-1>
- Xue, Y., Gu, X., Wang, X., Sun, C., Xu, X., Sun, J., Zhang, B., 2009. The hydroxyl radical generation and oxidative stress for the earthworm *Eisenia fetida* exposed to tetrabromobisphenol A. *Ecotoxicology* 18, 693–699. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0333-2>
- Yadav, J., Gupta, R.K., Kumar, D., 2017. Heavy metals toxicity on growth and reproduction of *Eisenia fetida*. *Res. Environ. Life Sci.* 6, 565–568.
- Yadav, S.K., 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South Afr. J. Bot.* 76, 167–179. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.10.007>
- Yadav, V., Arif, N., Kováč, J., Singh, V.P., Tripathi, D.K., Chauhan, D.K., Vaculík, M., 2021. Structural modifications of plant organs and tissues by metals and metalloids in the environment: A review. *Plant Physiol. Biochem.* 159, 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.047>
- Yaiche, F., Sbartaï, H., Sbartaï, I., 2017. Cellular Responses Observed Following Contamination by the Pathogen of Task Halo" *Pyrenophoratriirtici-repentis*" or Heavy Metal" Copper" in Durum Wheat (*Triticum durum* Desf). *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 40, 136–144.
- Yakoubi, L., 2019. Isolement et caractérisation de bactéries cadmium-résistantes de sols des sites pollués" étude de l'accumulation des ions métalliques" (PhD Thesis).
- Yan, W., Hamid, N., Deng, S., Jia, P.-P., Pei, D.-S., 2020. Individual and combined toxicogenetic effects of microplastics and heavy metals (Cd, Pb, and Zn) perturb gut microbiota homeostasis and gonadal development in marine medaka (*Oryzias melastigma*). *J. Hazard. Mater.* 397, 122795. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122795>
- Yang, X., Li, Q., Tang, Z., Zhang, W., Yu, G., Shen, Q., Zhao, F.-J., 2017. Heavy metal concentrations and arsenic speciation in animal manure composts in China. *Waste Manag.* 64, 333–339.
- Yang, X., Song, Y., Kai, J., Cao, X., 2012. Enzymatic biomarkers of earthworms *Eisenia fetida* in response to individual and combined cadmium and pyrene. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 86, 162–167. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.09.022>
- Yi, Y., Yang, Z., Zhang, S., 2011. Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower

- reaches of the Yangtze River basin. *Environ. Pollut., Nitrogen Deposition, Critical Loads and Biodiversity* 159, 2575–2585. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.06.011>
- Yuanan, H., He, K., Sun, Z., Chen, G., Cheng, H., 2020. Quantitative source apportionment of heavy metal(loid)s in the agricultural soils of an industrializing region and associated model uncertainty. *J. Hazard. Mater.* 391, 122244. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122244>
- Yücel, G., Cüneyt, A.K.I., 2019. EFFECTS OF SOME OF HEAVY METALS ON TOTAL PROTEIN AMOUNT AND PEROXIDASE ACTIVITY IN SOLANUM LYCOPERSICUM MILL. *J. Sci. Perspect.* 3, 371–378.
- Yuvaraj, A., Karmegam, N., Tripathi, S., Kannan, S., Thangaraj, R., 2020. Environment-friendly management of textile mill wastewater sludge using epigeic earthworms: Bioaccumulation of heavy metals and metallothionein production. *J. Environ. Manage.* 254, 109813. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109813>
- Zenati, N., Messadi, D., 2010. Utilisation de la géostatistique dans l'établissement de la carte de vulnérabilité intrinsèque d'une nappe superficielle à un polluant par infiltration verticale. Cas de la nappe superficielle de la plaine Ouest d'El Hadjar. Annaba. Algérie. *Cah. L'ASEES* 8, 105–110.
- Zhang, Q., Zhu, L., Wang, Jun, Xie, H., Wang, Jinhua, Han, Y., Yang, J., 2013. Oxidative stress and lipid peroxidation in the earthworm *Eisenia fetida* induced by low doses of fomesafen. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 201–208. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0962-5>
- Zhang, T., Wang, N.-F., Liu, H.-Y., Zhang, Y.-Q., Yu, L.-Y., 2016. Soil pH is a Key Determinant of Soil Fungal Community Composition in the Ny-Ålesund Region, Svalbard (High Arctic). *Front. Microbiol.* 7, 227. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00227>
- Zheng, J., Ma, X., Zhang, X., Hu, Q., Qian, R., 2018. Salicylic acid promotes plant growth and salt-related gene expression in *Dianthus superbus* L. (Caryophyllaceae) grown under different salt stress conditions. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 24, 231–238. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0496-x>
- Zhou, L.X., Wong, J.W.C., 2003. Behavior of heavy metals in soil: Effect of dissolved organic matter. *Geochem. Hydrol. React. Heavy Met. Soils* 270.
- Zohreh Mirsalari, A.R.S., 2014. Distribution and Seasonal Variation of Heavy Metal in Surface Sediments from Arvand River, Persian Gulf. *J. Mar. Sci. Res. Dev.* 04. <https://doi.org/10.4172/2155-9910.1000150>



Annexes



Annexe 1: Questionnaire auprès des résidents vivant à proximité de la zone d'étude.

Questionnaire



Le document présenté est réalisé dans le cadre d'une recherche universitaire visant à évaluer les risques liés à une contamination par les métaux lourds auprès des habitants vivant à proximité du site pollué. Les renseignements que vous fournirez sont strictement anonymes. Nous sommes très reconnaissants par avance de votre collaboration.

▪ Informations générales

Sexe :

- Homme Femme

Age :

- ≤ 0,5 ans
 Entre 0,5 et 5 ans
 Entre 5 et 12 ans
 Entre 12 et 20 ans
 ≥ 20 ans

Poids : Kg

▪ Résidence

Depuis quand habitez-vous dans ce logement ? Ans Mois

Vous arrive-t-il de sentir des mauvaises odeurs venant du complexe industriel ?

- Oui Non

Y'a-t-il des jours où les odeurs vous empêchent d'ouvrir vos fenêtres ?

- Oui Non

Y'a-t-il des problèmes d'humidité ?

- Oui Non

Les enfants fréquentent-ils régulièrement des lieux proches du site industriel ?

- Oui Non

Ont-ils tendance de jouer dans la boue et traîner sur les champs ?

- Oui Non

▪ **Etat de santé**

Êtes-vous fumeur (se) ?

- Oui Non

Pratiquez-vous une activité sportive ?

- Oui Non

Consommez-vous les légumes et/ou les fruits cultivés dans les sols à proximité ?

- Oui Non

Quel type d'eau buvez-vous quotidiennement ?

- Eau de puits
 Eau de robinet
 Eau minérale

Avez-vous des antécédents familiaux ?

- Oui Non

Si oui, précisez lesquels :

- Arthrose
 Asthme
 Cancer
 Diabète
 Hypertension (HTA)
 Maladies cardiovasculaires (AVC)
 Maladies neurodégénératives (Alzheimer)

Souffrez vous de :

- Crise de toux
 Douleurs au niveau du dos
 Eczéma et allergie cutanée
 Fatigue générale
 Irritations nasales et oculaires
 Maux de tête
 Nausées et vomissements
 Troubles psychiques (Colère et/ou dépression)

Annexe 2: Questionnaire auprès des travailleurs opérant au sol pollué.

Questionnaire



Le document présenté est réalisé dans le cadre d'une recherche universitaire visant à évaluer les risques liés à une contamination par les métaux lourds auprès des agriculteurs travaillant au site pollué. Les renseignements que vous fournirez sont strictement anonymes. Nous sommes très reconnaissants par avance de votre collaboration.

▪ Informations générales

Sexe :

- Homme Femme

Age :

- ≤ 0,5 ans
 Entre 0,5 et 5 ans
 Entre 5 et 12 ans
 Entre 12 et 20 ans
 ≥ 20 ans

Poids : Kg

▪ Agriculture

Depuis combien de temps exercez-vous cette profession ? Ans Mois

Combien d'heures travaillez-vous par jour ? H/J

Utilisez-vous l'eau issue de puits pour l'irrigation agricole ?

- Oui Non

Avez-vous déjà utilisé des techniques culturales traditionnelles ?

- Oui Non

Possédez-vous des Equipements de Protection Individuelle (EPI) ?

- Oui Non

Si oui, que portez-vous ?

- Bottes en caoutchouc
 Combinaison
 Gants

▪ **Etat de santé**

Êtes-vous fumeur (se) ?

- Oui Non

Pratiquez-vous une activité sportive ?

- Oui Non

Consommez-vous les légumes et/ou les fruits cultivés dans les sols à proximité ?

- Oui Non

Quel type d'eau buvez-vous quotidiennement ?

- Eau de puits
 Eau de robinet
 Eau minérale

Avez-vous des antécédents familiaux ?

- Oui Non

Si oui, précisez lesquels :

- Arthrose
 Asthme
 Cancer
 Diabète
 Hypertension (HTA)
 Maladies cardiovasculaires (AVC)
 Maladies neurodégénératives (Alzheimer)

Souffrez vous de :

- Crise de toux
 Douleurs au niveau du dos
 Eczéma et allergie cutanée
 Fatigue générale
 Irritations nasales et oculaires
 Maux de tête
 Nausées et vomissements
 Troubles psychiques (Colère et/ou dépression)