

Effet d'Interaction du Zinc et du Manganèse avec le Cuivre Lors de Leur Epuration par Deux Plantes Aquatiques Azolla Pinnata P. (Azollaceae) et Lemna Aequinoctialis Welw. (Lemnaceae)

[Interaction Effect of Zinc and Manganese with Copper During Their Purification by Two Aquatic Plants Azolla Pinnata P. (Azollaceae) and Lemna Aequinoctialis Welw. (Lemnaceae)]

Falihery Rajoelison¹, Jaconnet Oliva Andrianavoravelona², Jean de Dieu Ramaroson³, Rijalalaina Rakotosaonab², Philippe Andrianary²

¹ Doctorant Université de Tananarive Madagascar : Ecoles Doctorales INGE, Equipe d'Accueil Géosciences, Technologie des poudres, Matériaux durable et habitat économique

² École Supérieure Polytechnique d'Antananarivo, Département Génie chimique, BP 1500 Antananarivo 101

³ Centre National de Recherches Industrielle et Technologique, Département Matériaux et Génie Civil, BP 6294 Fiadanana/Tsimbazaza Antananarivo 101



Résumé – Cette étude a pour investigation d'évaluer l'effet d'interaction du zinc et du manganèse avec le cuivre lors de leur épuration par deux plantes aquatiques *Azolla pinnata* p. et *Lemna aequinoctialis* Welw. La concentration du cuivre dans le milieu hydroponique est fixée à 0, puis 0,5 puis 1 et 2 mg.L-1 tandis que celle du zinc et du manganèse seront variées entre 1, 2, 3 et 4 mg.L-1 chacun. D'une manière générale, les résultats obtenus montrent que *A. pinnata* accumule plus de métaux lourds que *L. aequinoctialis* en présence du cuivre et l'effet d'interaction du zinc est plus significatif que celui du manganèse. Quand *A. pinnata* est traité par 1 mg Cu.L-1 et 4 mg Mn.L-1, la plante en accumule 361,36 mg Mn.kg-1 dans sa biomasse, tandis que l'accumulation est de l'ordre de 269,37 mg Mn.kg-1 quand *L. aequinoctialis* est traité par 0,5 mg Cu.L-1 et 4 mg Mn.L-1. Cependant, la plante *A. pinnata* accumule 362,25 mg Zn.kg-1, concentration maximale, lorsqu'elle est traitée par 1 mg Cu.L-1 et 4 mg Zn.L-1, et celle de *L. aequinoctialis* est 297,96 mg Zn.L-1 quand cette dernière est traitée par 0,5 mg Cu.L-1 et 4 mg Zn.L-1. Concernant le Facteur de Bioconcentration, comme la concentration accumulée dans chaque plante, les FBC estimés chez *A. pinnata* sont supérieurs à ceux de *L. aequinoctialis*, tant pour le zinc que pour le manganèse. Ils sont respectivement de 90 et 88 pour le manganèse et 94 et 74 pour le Zinc.

Mots clés – Accumulation, Bioconcentration, Hydroponique, Interaction, Métaux lourds.

Abstract – This project has an investigation to evaluate the effect of zinc interaction and the manganese with the copper during their purification with two aquatic plants *Azolla pinnata* p. from and *Lemna aequinoctialis* Welw. The copper rate in a hydroponic solutions is fixed at 0, then 0,5 then 1 and 2 mg.L-1 while, that of zinc and manganese will be varied between 1, 2, 3 and 4mg.L-1 each. Generally speaking, the findings confirm that *A. pinnata* accumulate more heavy metals than *L. aequinoctialis* in the presence of copper and the interaction effect of zinc is more signifying than that of manganese. When *A. pinnata* is treated by 1 mg Cu.L-1 and 4 mg Mn.L-1, the plant accumulates 361,36 mg Mn.kg-1 in its biomass, though the accumulating is of the order of 269,37mg Mn.kg-1 when *L. aequinoctialis*

is treated by 0,5 mg Cu.L-1 and 4 mg Mn.L-1. However, the *A. pinnata* plant accumulates a maximal quantity of 362,25 mg.kg-1 of zinc in its fabric when it is treated by 1 mg Cu.L-1 and 4 mg Zn.L-1, and that of *L. aequinoctialis* 297,96 mg Zn.L-1 when that last plant is treated by 0,5 mg Cu.L-1 and 4 mg Zn.L-1. Concerning the Bio Concentration Factor(FBC), like the concentration accumulated in each plants, the FBC estimated in *A. pinnata* are upper than that of *L. aequinoctialis*, as for the zinc and for the manganese. They are respectively 90 and 88 for the manganese and 94 and 74 for the Zinc.

Keywords – Accumulation, Bioconcentration, Hydroponic, Heavy metal, Interaction

I. INTRODUCTION

Des études sur le traitement des métaux lourds dans les milieux aquatiques en utilisant des plantes sont en essor actuellement [1], [2], [3]. Les lentilles d'eau forment un élément essentiel de l'écosystème des eaux stagnantes et peu profondes [4]. Elles jouent un rôle de bio-remédiation des métaux lourds du milieu aquatique [5], [6], [7], [8]. Aussi, elles fournissent de la nourriture, un abri, de l'ombrage et un substrat aux poissons et aux invertébrés aquatiques [9], [10] et peuvent être utilisées comme des biofertilisants des riz et de production des biogaz [11], [12], [13].

Ces petites lenticules sont présentes quasiment partout dans le monde et sont largement répandues dans toute l'Amérique du Nord, en Europe, en Asie, en Afrique et en Australie [14]. Il y a plusieurs types de lentille d'eau dont les deux qui nous intéressent sont *Lemna aequinoctialis* et *Azolla pinnata*. Nous pouvons les trouver dans l'eau calme ou faiblement courante des étangs d'eau douce, des marais, des lacs et des cours d'eaux tranquilles [15], elles sont présentes dans une large gamme de conditions trophiques.

Concernant les données sur les plantes aquatiques, plusieurs études ont été déjà faites avec *L. minor*, *L. gibba* ou *A. caroliniana* sur leurs comportement vis-à-vis des métaux lourds et sur l'accumulation des éléments traces dans leurs tissus [6], [16], [17]. Cependant, les études consacrées à *L. aequinoctialis* et *A. pinnata* sont moins nombreuses et les connaissances à ce sujet sont assez limitées, mais aussi à Madagascar, *Lemna* et *Azolla* sont des plantes rencontrées dans les cressonnières, les rizières, très souvent en milieux aquatiques des bas-fonds [18]. Par contre, ces milieux surtout dans les grandes villes, comme Antananarivo par exemple, sont les lieux de collecte, de traitement, d'évacuation des eaux usées ménagères. Souvent, les eaux usées sont directement déversées dans les cressonnières ou les zones humides de la ville [19].

L'absorption de la racine d'un élément varie selon plusieurs facteurs liés aux caractéristiques du milieu nutritif et à la racine de la plante. Un parmi ces facteurs est l'interaction entre les éléments du milieu nutritif. Les interactions se manifestent lors de l'absorption et la migration dans la plante et qui se traduisent soit par une mauvaise alimentation des organes ou des tissus de la plante soit par une inhibition du rôle d'éléments dans le métabolisme de la plante [20].

C'est pourquoi l'objectif de cette étude se focalise sur la comparaison de l'accumulation des métaux lourds tel que le zinc (Zn) et manganèse (Mn) sous l'effet du Cuivre (Cu) par *Lemna aequinoctialis* et *Azolla pinnata*. Afin de pouvoir évaluer laquelle des deux plantes a le pouvoir éliminatrice supérieur de ces deux métaux en fonction des différentes concentrations du Cu dans le milieu nutritif, nous allons (1) Déterminer la concentration du Zn et Mn accumulée dans les tissus de *Lemna* et *Azolla* en fonction du taux du cuivre. (2) Evaluer l'effet d'interaction du Zn ou Mn avec la concentration du cuivre. (3) Calculer les facteurs de bioconcentration du Zn et Mn pour chaque plante. (4) Comparer le potentiel d'absorption du Zn, Mn par *Lemna aequinoctialis* et *Azolla pinnata* en fonction de la concentration de Cuivre.

II. MATERIELS ET METHODES

2.1.- Plantes souches

Les plantes ont été identifiées dans le département Flore, Division Herbar du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza d'Antananarivo. Elles ont été récoltées depuis la cressonnière du bas fond du Fokontany d'Apandran Est, district d'Antananarivo III de la commune Urbaine d'Antananarivo. Les plantes récoltées puis triées sont lavées plusieurs fois à l'eau bidistillée avant d'être ensemencées séparément dans des bacs contenant la solution nutritive (milieu SIS) recommandée par l'OCDE [21], [22] pour la pré-culture. La durée de la pré-culture est au minimum 30 jours. Des plantes souches issues de cette pré-culture sont utilisées durant l'étude expérimentale. 7 jours avant l'essai, les plantes sont acclimatées au laboratoire ; une quantité suffisante de colonie est transférée aseptiquement dans le milieu de culture avec les conditions de l'essai. Seules les plantes possédant des racines et ont 2 ou 3 frondes dépourvues de lésions visibles ou de chlorose sont utilisées. Le pH du milieu nutritif a été ajusté à $6,5 \pm 0,1$.

Deux grammes (2g) de chaque plantes sont exposées à divers traitement des métaux lourds. La concentration du cuivre est fixée à 0 puis 0,5 puis 1 et 2 mg.L⁻¹ tandis que celle du Zinc et manganèse sera variée de 1, 2, 3 et 4 mg.L⁻¹ chacun. Chaque concentration est répétée 3 fois (n=3). Les deux plantes *A. pinnata* et *L. aequinoctialis* sont traitées séparément par les métaux Zn et Mn. Les sources des métaux lourds pendant l'étude sont les cristaux de (MnCl₂, 4H₂O) pour le manganèse, le (ZnSO₄, 7H₂O) pour le zinc et les

cristaux de ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) pour le cuivre. La condition d'absorption de la lentille d'eau est favorable à partir du temps de doublement de ses frondes, de ce fait que la culture sera faite pendant 4 jours [23], ainsi, la durée de l'expérience est limitée par l'épuisement des éléments dans le milieu nutritif.

2.2 – Analyses physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques dont le pH, la conductivité électrique (CE) et la température de la solution sont faites par méthode électrométrie et sont mesurés à l'aide d'un multimètre CONSORT C535 numérique, les mesures sont faites tous les jours et se feront durant 4 jours durée de l'étude expérimentale.

La masse fraîche de la lentille d'eau a été déterminée par pesage après avoir prélevé la plante dans chaque bac à l'aide d'un tamis puis étalée sur un papier absorbant pendant 5 minutes. La mesure a été effectuée au début et à la fin de l'expérience. La masse fraîche de départ est déterminée à partir d'un échantillon de thalles prélevé dans le lot qui a servi à ensemercer les récipients d'essai et à la fin de l'expérience. Après avoir déterminé la masse fraîche de la biomasse, les plantes sont séchées dans l'étuve à 60° pendant 24h pour obtenir la matière sèche (MS) [2], [3]. Les masses sont mesurées à l'aide de la balance de précision PRECISA XT 220A et les différentes concentrations des métaux lourds à l'aide de la spectroscopie d'absorption atomique (SAA) VARIAN 240 FS.

2.3-Paramètres toxicologiques

Le facteur de bioconcentration (FBC) est le rapport entre la concentration des métaux accumulés dans la plante exprimé en mg.kg^{-1} et celle dans le milieu nutritif exprimé en mg.L^{-1} [24], [25]. La détermination de ce paramètre est importante lors de l'étude de l'absorption des métaux par la plante [26]. Des études récentes affirment que la détermination de ce paramètre lors de la phytoremédiation des métaux lourds est primordiale pour connaître la capacité d'épuration de la plante [27], [28]. Il est un indicateur de pouvoir accumulatrice par la plante des métaux en fonction de leurs concentrations dans le milieu nutritif [29] et est nécessaire lors de la comparaison des résultats obtenus pour des différentes plantes [30], [31] à des diverses concentrations des polluants [32].

Le facteur de bioconcentration est donné par la relation :

$$\text{FBC} = \frac{C_{\text{bio}}}{C_{\text{nut}}}$$

C_{bio} : Quantité accumulée du polluant dans le tissu végétale

C_{nut} : Concentration du polluant dans le milieu nutritif

Le pourcentage d'absorption du polluant par la plante (% E°) exprime le rapport entre la concentration finale et la concentration initiale du métal dans le milieu nutritif [33]. Il est donné par la relation : $\% E^\circ = (C_i - C_f) / C_i \times 100$

% E : pourcentage d'élimination

C_i : Concentration initiale du polluant dans le milieu nutritif

C_f : Concentration après culture du polluant dans le milieu nutritif

2.4-Traitement des données

Toutes les données ont été traitées par le logiciel de Microsoft office Excel 2013 et l'analyse des données par l'ANOVA à deux facteurs de Xlstat 2014.5.03. L'effet d'un facteur est significative pour la valeur de p -value inférieure à 0.05 ($p < 0.05$). Toutefois, la moyenne de chaque résultat est comparée avec la moyenne du témoin à l'aide du test de comparaison multiple de Dunnett (bilatéral) d'intervalle de confiance à 95% ($p < 0.05$) [21].

III. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Accumulation du manganèse par *L. aequinoctialis*

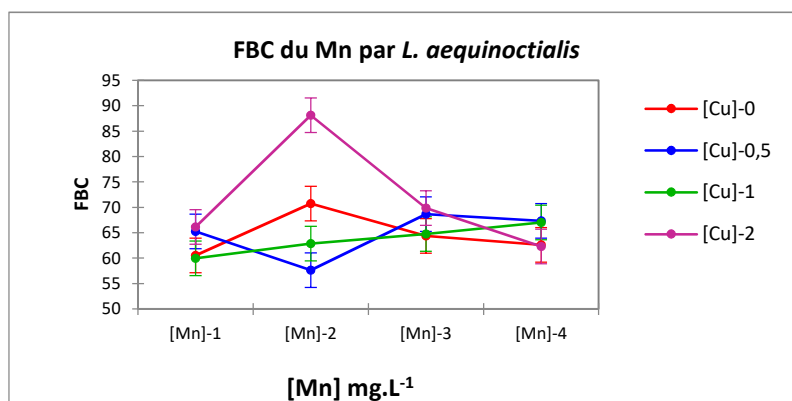
Après les 4 jours de traitement de *L. aequinoctialis* dans les concentrations du manganèse et en présence du cuivre, les concentrations du manganèse dans la matière sèche de la plante et les facteurs de bioconcentration (FBC) sont rapportées dans le tableau 1.

Pendant l'expérience, toutes les frondes de chaque bac ne présentent aucun signe de chlorose ni de nécrose. Le taux du manganèse dans les plantes dépend de l'effet du cuivre. La dépendance est significative et l'effet est symétrique. Le tableau 1 nous montre le taux du manganèse dans la MS de *L. aequinoctialis* et *A. pinnata* en mg.kg^{-1} ainsi que son facteur de bioconcentration après 4 jours de traitement pour les différentes concentrations du cuivre. Le taux du manganèse dans la masse sèche *L. aequinoctialis* est compris entre $59,96 \pm 2,60 \text{ mg.kg}^{-1}$ et $269,37 \pm 7,59 \text{ mg.kg}^{-1}$. Cependant le FBC varie entre 58 et 88 (tableau 1). Ces valeurs sont obtenues par la même concentration du manganèse 2 mg.L^{-1} mais la valeur inférieure est traitée avec $0,5 \text{ mg Cu.L}^{-1}$ et la valeur supérieure avec $1,5 \text{ mg Cu.L}^{-1}$. Le taux du cuivre et celui du manganèse ont chacun des effets significatifs sur le facteur de bioconcentration *L. aequinoctialis* ($F = 19.33$; $p < 0.001$ et $F = 12.46$; $p < 0.001$) ainsi que l'interaction du cuivre avec le manganèse ($F = 17.76$; $p < 0.001$) (tableau 2).

Tableau1 : Concentration du manganèse dans la matière sèche (MS) chez *L. aequinoctialis* en présence du cuivre. Les valeurs représentées sont les valeurs moyennes $\pm$ DS¹ avec n=3.

<i>L. aequinoctialis</i>								
Mn dans solution	Mn (1 mg.L ⁻¹)		Mn (2 mg.L ⁻¹)		Mn (3 mg.L ⁻¹)		Mn (4 mg.L ⁻¹)	
Cu (mg.L ⁻¹)	MS (μg.g ⁻¹)	FBC	MS (μg.g ⁻¹)	FBC	MS (μg.g ⁻¹)	FBC	MS (μg.g ⁻¹)	FBC
0	60 $\pm$ 0,65a	61a	141 $\pm$ 2,8a	71a	193 $\pm$ 5,8a	64a	250 $\pm$ 8,5a	63a
0.5	65 $\pm$ 1,80a	65a	115 $\pm$ 2,8b	58b	205 $\pm$ 6,7a	69a	269 $\pm$ 7,5a	67a
1	59 $\pm$ 2,60a	60a	125 $\pm$ 5,7a	63c	194 $\pm$ 6,2a	65a	268 $\pm$ 23,0a	67a
2	66 $\pm$ 2,07a	66a	176 $\pm$ 3,4c	88d	209 $\pm$ 5,1a	70a	249 $\pm$ 8,3a	62a

Les moyennes par colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de comparaison multiple de Dunnett ($p < 0,001$) avec un intervalle de confiance 95%.



Courbe 1 : Facteur de bioconcentration du Mn par *L. aequinoctialis*.

Tableau.2: Analyse de la variance à deux facteurs (la concentration du cuivre et du manganèse) de variable quantitative dépendante FBC du Mn par *L. aequinoctialis* (n= 3).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
[Cu]	3	485,55	161,85	19,33	< 0,0001
[Mn]	3	313,00	104,33	12,46	< 0,0001
[Cu]*[Mn] ²	9	1338,26	148,70	17,76	< 0,0001

Pour 0 mg Cu.L⁻¹ les valeurs du FBC *L. aequinoctialis* traitées avec 1 ; 2 ; 3 et 4 mg Mn.L⁻¹ sont respectivement 61, 71, 64 et 63. Ainsi, pour le témoin, l'élimination du Mn par *L. aequinoctialis* est favorable (tableau 1) lorsque la plante est traitée avec 2 mg Mn.L⁻¹. Dans ce cas, le taux du manganèse accumulé dans la biomasse est de 141,45 $\pm$ 2,80 mg.kg⁻¹. Ce taux du manganèse accumulé est 6 fois plus supérieur à celui accumulé par *L. minor*. La référence [6] a trouvé 24.6 mg Mn.kg⁻¹ dans le tissu de *L. minor*.

Quand le taux du cuivre dans le milieu nutritif est 0,5 mg.L⁻¹, son effet d'interaction avec 1 ; 3 et 4 mg Mn.L⁻¹ est synergique. Le FBC *L. aequinoctialis* atteint 67 et la plante peut en accumuler jusqu'à 269,37 $\pm$ 7,59 mg Mn.kg⁻¹ dans son tissu. La courbe 1 nous montre que le FBC est maximal quand la plante est traitée avec 2 mg Cu.L⁻¹ et 2 mg Mn.L⁻¹. Sur ce point, l'absorption du Mn par *L. aequinoctialis* est maximale, le traitement sera donc favorable avec ces

¹ Déviation Standard

² Interaction entre la concentration du cuivre et celle du manganèse

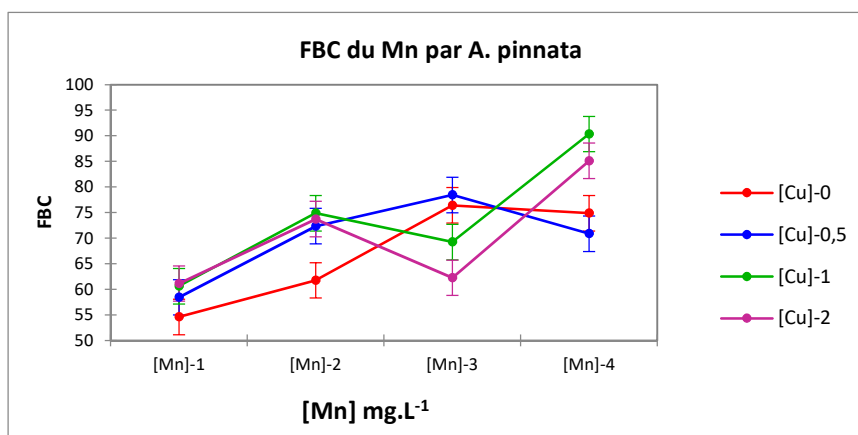
conditions. De ce fait, elle accumule $176,26 \pm 13,42 \text{ mg.kg}^{-1}$ et possède un facteur de bioconcentration 88.

3.2 Accumulation du manganèse par *A. pinnata*

Tableau 3 : Concentration du manganèse dans la matière sèche chez *A. pinnata* en présence du cuivre. Les valeurs représentées sont les valeurs moyennes $\pm$ DS avec $n=3$.

<i>A. pinnata</i>									
Mn dans solution	Mn (1 mg.L ⁻¹)		Mn (2 mg.L ⁻¹)		Mn (3 mg.L ⁻¹)		Mn (4 mg.L ⁻¹)		
Cu (mg.L ⁻¹)	MS (μg.g ⁻¹)	FBC	MS (μg.g ⁻¹)	FBC	MS (μg.g ⁻¹)	FBC	MS (μg.g ⁻¹)	FBC	
0	55 $\pm$ 2,33 a	55a	123 $\pm$ 1,9a	62a	229 $\pm$ 5,9a	76a	299 $\pm$ 2,4a	75a	
0.5	58 $\pm$ 2,22a	58a	145 $\pm$ 2,0a	72b	235 $\pm$ 15,1a	78a	283 $\pm$ 12,5a	71a	
1	61 $\pm$ 1,73 a	61a	150 $\pm$ 4,0b	75c	207 $\pm$ 11,1a	69a	361 $\pm$ 26,5b	90b	
2	60 $\pm$ 2,78 a	61a	147 $\pm$ 5,4 c	74d	187 $\pm$ 4,7b	62b	340 $\pm$ 8,6c	85c	

Les moyennes par colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de comparaison multiple de Dunnett ($p < 0,001$) avec un intervalle de confiance 95%



Courbe 2 : Facteur de bioconcentration du Mn par *A. pinnata*

L'absorption du manganèse et le facteur de bioconcentration de *A. pinnata* dépendent de l'interaction du manganèse avec le cuivre dans le milieu nutritif ; de ce fait l'effet d'interaction des deux métaux est significatif

($p < 0,001$) et de même pour les concentrations du manganèse et du cuivre testées ($F = 10,95$; $p < 0,001$ et $F = 109,25$; $p < 0,001$) (tableau 4).

Tableau.4: Analyse de la variance à deux facteurs (la concentration du cuivre et du manganèse) de variable quantitative dépendante FBC du Mn par *A. pinnata* ($n= 3$).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
[Cu]	3	284,28	94,76	10,95	< 0,001
[Mn]	3	2836,95	945,65	109,25	< 0,001
[Cu]*[Mn]	9	1341,56	149,06	17,22	< 0,001

Le taux du manganèse accumulé dans les tissus de *A. pinnata* en mg.kg⁻¹ et son FBC après 4 jours de traitement pour les différents concentrations du cuivre sont rapportés dans le *tableau 3*. Le FBC du manganèse varie entre 55 et 90 tandis que le taux du manganèse accumulé dans les tissus varie entre 54,59 ± 2,33 mg.kg⁻¹ et 361,36 ± 26,54 mg.kg⁻¹.

Premièrement, quand la concentration du cuivre est 0 mg.L⁻¹ et celui du manganèse est 1 mg Mn.L⁻¹ le FBC du manganèse *A. pinnata* est 55. Il devient 62 quand il y a 2 mg Mn.L⁻¹ et 76 quand il y a 3 mg Mn.L⁻¹. Pourtant, quand la concentration du manganèse est 4mg.L⁻¹ le FBC diminue à 75. Ainsi, le FBC est proportionnel à la concentration du manganèse quand il n'y a pas du cuivre dans le milieu. La quantité du métal accumulée dans la biomasse quand le FBC est égal à 76 est 229,21 ± 5,96 mg Mn.kg⁻¹, ce taux accumulé est largement inférieur à celui de *A. Caroliniana*, plante peut en accumuler jusqu'à 418 mg Mn.kg⁻¹ [2]. Par contre, le FBC de *A. pinnata* trouvé ici est plus grand par rapport à celui de *A. caroliniana* (FBC = 5,4).

Deuxièmement, pour 0,5 mg Cu.L⁻¹, l'effet d'interaction avec 1 ; 2 et 3 mg Mn.L⁻¹ est synergique, les FBC sont respectivement 58 ; 72 et 78 (*tableau 3*).

Les FBC sont proportionnels par rapport à la concentration du Mn quand cette dernière est inférieure ou égale à 3. Quand la concentration du manganèse est égale à 4 mg.L⁻¹, la capacité d'absorption de la plante diminue et le FBC devient 71. Cependant, c'est avec cette dernière concentration du manganèse et traitée avec 1 mg Cu.L⁻¹, que *A. pinnata* atteint son maximum d'absorption (*courbe 2*), la quantité accumulée dans son tissus est environ 361,36 ± 26,54 mg.kg⁻¹ (*tableau 3*) et le FBC est égale à 90.

Troisièmement, lorsque la plante est traitée avec 2 mg Cu.L⁻¹, le facteur de bioconcentration et la quantité accumulée dans la biomasse de *A. pinnata* sont légèrement inférieurs à ceux traités avec 1 mg Cu.L⁻¹.

Comparativement, même si l'effet d'interaction des deux métaux est hautement significatif sur l'élimination du manganèse pour *A. pinnata* et *L. aequinoctialis* ($p < 0,001$), nous avons vu que *A. pinnata* tolère plus le Mn que *L. aequinoctialis* et en présence du cuivre, leurs taux d'absorption sont différents. Ainsi, le FBC du manganèse par *L. aequinoctialis* est inférieur à celui de *A. pinnata*. Après 4 jours de traitement, *L. aequinoctialis* accumule dans sa biomasse 269,37 ± 7,59 mg Mn.kg⁻¹, concentration maximale accumulée lorsqu'elle est traitée avec 0,5 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹ et le FBC est maximal quand les concentrations des métaux sont 2 mg Cu.L⁻¹ et 2 mg Mn.L⁻¹, pour cela il est égal à 88 (*tableau 3*). Cependant le FBC maximal de *A. pinnata* est égal à 90 et accumule jusqu'à 361,78 ± 26,54 mg Mn.kg⁻¹, valeur supérieure à celui de *L. aequinoctialis*. Cette valeur maximale est obtenue lorsque la plante est traitée avec 1 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹ (*tableau 3*). Quand la concentration du manganèse augmente, c'est à dire quand il y a dans le milieu nutritif 2 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹, le FBC de *L. aequinoctialis* diminue à 62, et celui de *A. pinnata* à 85.

3.3- Accumulation du zinc par *L. aequinoctialis*

L'étude de l'analyse de la variance nous montre que l'effet d'interaction des deux métaux est très significatif pour l'accumulation du Zn par *L. aequinoctialis* ($F = 25,69$; $p < 0,001$) ainsi que l'effet du cuivre ($F = 11,64$; $p < 0,001$) et du zinc ($F = 62,73$; $p < 0,001$) (*tableau 6*)

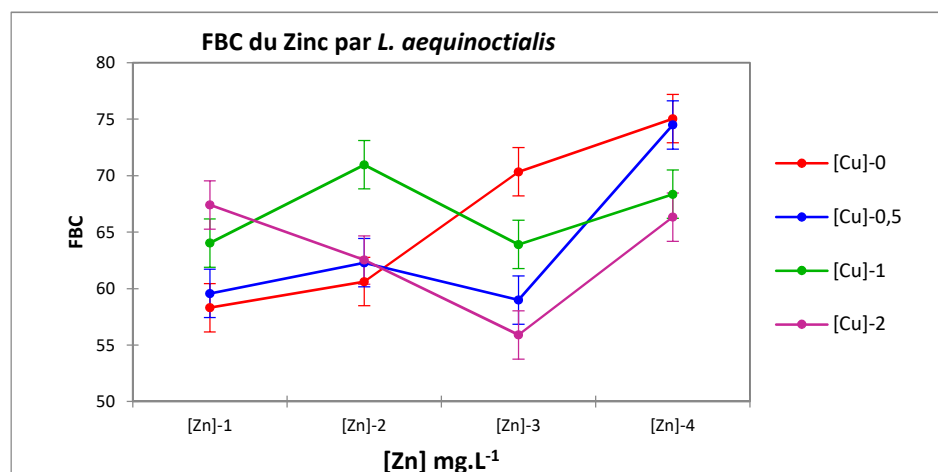
Tableau.5 : Concentration du zinc dans la matière sèche chez *L. aequinoctialis* en présence du cuivre. Les valeurs représentées sont les valeurs moyennes ± DS avec n=3.

<i>L. aequinoctialis</i>								
Zn dans la solution	Zn (1 mg.L ⁻¹)		Zn (2 mg.L ⁻¹)		Zn (3 mg.L ⁻¹)		Zn (4 mg.L ⁻¹)	
Cu (mg.L ⁻¹)	MS (µg.g ⁻¹)	FBC	MS (µg.g ⁻¹)	FBC	MS (µg.g ⁻¹)	FBC	MS (µg.g ⁻¹)	FBC
0	58 ± 1,3a	58a	121 ± 2,6a	61a	211 ± 7,3a	70a	300 ± 5,9a	75a
0.5	60 ± 1,2a	60a	125 ± 1,8a	62a	177 ± 5,7b	59b	298 ± 13,5a	74a
1	64 ± 0,9a	64b	142 ± 1,3b	71b	192 ± 3,0c	64c	273 ± 8,3b	68b
2	67 ± 2,9a	67c	125 ± 1,6a	63a	168 ± 6,5d	56d	265 ± 7,3c	66c

Les moyennes par colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de comparaison multiple de Dunnett ($p < 0,001$) avec un intervalle de confiance 95%.

Le FBC et le taux du zinc accumulé dans la matière sèche de *L. aequinoctialis* en fonction des différentes concentrations du cuivre sont rapportés dans le *tableau 5*. Il montre que, ce paramètre varie entre 56 (Cu = 2 mg.L⁻¹ ; Zn

= 3 mg.L⁻¹) et 75 (Cu = 0,5 mg.L⁻¹ ; Zn = 4 mg.L⁻¹) et le taux du zinc accumulé dans la biomasse de la plante varie entre 58,30 ± 1,33 mg.kg⁻¹ et 300,16 ± 5,88 mg.kg⁻¹.



Courbe 3 : Facteur de bioconcentration du Zn par *L. aequinoctialis*

Tableau.6: Analyse de la variance à deux facteurs (la concentration du cuivre et du manganèse) de variable quantitative dépendante FBC du Zn par *L. aequinoctialis* (n= 3).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
[Cu]	3	115,66	38,55	11,64	< 0,001
[Mn]	3	623,55	207,85	62,73	< 0,001
[Cu]*[Zn] ³	9	765,98	85,11	25,69	< 0,001

Pour le témoin (0 mg Cu.L⁻¹), le FBC de *A. pinnata* augmente lorsque la concentration du zinc croît. Ces valeurs correspondants à 1 ; 2 ; 3 et 4 mg Zn.L⁻¹ sont respectivement 58 ; 61 ; 70 et 75 (tableau 5). L'ordre de grandeur du FBC de *L. aequinoctialis* selon le taux du cuivre dans le milieu est le suivant : la valeur la plus grande est égale à 75, une valeur obtenue quand elle est traitée avec 4 mg Zn.L⁻¹ et 0 mg Cu.L⁻¹, suivit du FBC obtenu quand la plante est traitée avec 0,5 mg Cu.L⁻¹, qui est égale à 74 (4 mg Zn.L⁻¹), puis le FBC avec 1 mg Cu.L⁻¹ qui est égale à 71 (2 mg Zn.L⁻¹) et en fin celui avec une concentration du cuivre 2 mg.L⁻¹, dans ce dernier cas le FBC est égal à 67, obtenu lorsque la concentration du zinc est 1 mg.L⁻¹. Ainsi le FBC diminue quand la

concentration du cuivre augmente (tableau 5). Cependant l'effet d'interaction du zinc avec le cuivre est synergique quand la concentration du zinc est inférieure à 2 mg.L⁻¹ et est antagoniste quand elle est supérieure (courbe 3). Comme dans le traitement du manganèse avec cette plante, le pourcentage d'élimination du zinc est inversement proportionnel à la concentration du métal dans le milieu.

3.4 Accumulation du zinc par *A. pinnata*

Les quantités du zinc accumulées dans la biomasse *A. pinnata* suivis des valeurs du FBC sont rapportées dans le tableau 7.

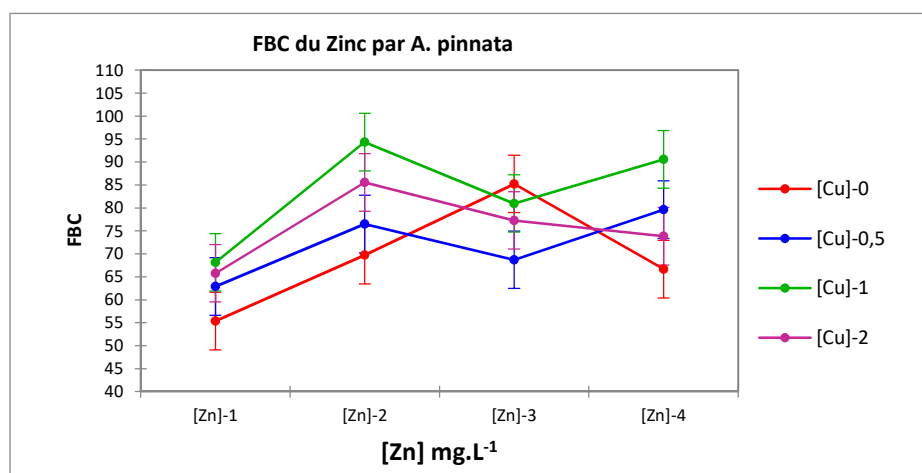
Tableau 7 : Concentration du zinc dans la matière sèche (MS) chez *A. pinnata* en présence du cuivre. Les valeurs représentées sont les valeurs moyennes ± DS avec n=3.

<i>A. pinnata</i>								
Zn dans la solution	Zn (1 mg.L ⁻¹)		Zn (2 mg.L ⁻¹)		Zn (3 mg.L ⁻¹)		Zn (4 mg.L ⁻¹)	
Cu (mg.L ⁻¹)	MS (µg.g ⁻¹)	FBC	MS (µg.g ⁻¹)	FBC	MS (µg.g ⁻¹)	FBC	MS (µg.g ⁻¹)	FBC
0	55,37 ± 5,06 a	55a	139,44 ± 4,25 a	70a	255,66 ± 30,13 a	85a	266,61 ± 33,44 a	67a
0.5	62,91 ± 2,79 a	63a	152,96 ± 1,42 a	76a	206,13 ± 29,64 b	69b	318,57 ± 11,48 b	80a

³ Interaction du zinc avec le cuivre

1	68,15 ± 3,51 a	68a	188,66 ± 5,03 b	94b	242,92 ± 10,83 a	81a	362,25 ± 26,87 c	91b
2	65,72 ± 3,53 a	66a	171,12 ± 7,60 a	86c	231,86 ± 10,55 a	77a	295,41 ± 18,74 a	74a

Les moyennes par colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de comparaison multiple de Dunnett ($p < 0,001$) avec un intervalle de confiance 95%.



Courbe 4 : Facteur de bioconcentration du Zn par *A. pinnata*

Tableau.8: Analyse de la variance à deux facteurs (la concentration du cuivre et du manganèse) de variable quantitative dépendante FBC du Zn par *A. pinnata* (n= 3).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
[Cu]	3	1382,87	460,96	16,28	< 0,001
[Mn]	3	2421,02	807,01	28,50	< 0,001
[Cu]*[Zn]	9	1291,23	143,47	5,07	< 0,001

Le tableau 8 nous montre le résultat de l'analyse de la variance à 2 facteurs qui sont la concentration du cuivre et la concentration du zinc dans le milieu nutritif. Pourtant la variable dépendante quantitative est le FBC du zinc par *A. pinnata*. A un intervalle de confiance 95% et de seuil de tolérance 0,0001, l'analyse de la variance nous montre que l'interaction entre la concentration du Cuivre et celle du zinc est significative ($F = 5,07$; $p < 0,001$) (tableau 8).

Pour le témoin, les FBC correspondants à 1 ; 2 ; 3 et 4 mg Zn.L⁻¹ sont respectivement 55 ; 70 ; 85 et 67 et la quantité du zinc accumulée par *A. pinnata* dans ses tissus est comprise entre $55,37 \pm 5,06$ et $266,61 \pm 33,44$ mg Zn.kg⁻¹ (tableau 7). C'est pourquoi, l'élimination du zinc par la plante est donc favorable quand il y a 3 mg Zn.L⁻¹. Avec la même concentration du cuivre, la quantité accumulée est petite autant que la quantité dans le milieu est faible. En comparant ces résultats aux résultats trouvés dans les recherches antécédents, *A. filiculoides* accumule largement du Zn dans sa biomasse par rapport à *A. pinnata*, la plante accumule jusqu'à 6408 mg Zn.kg⁻¹ [34]. Cependant, [2] a trouvé un FBC égal

à 57 avec la plante *A. caroliniana*, une valeur inférieure à celui de *A. pinnata*.

Lorsque la plante est traitée avec 0,5 mg Cu.L⁻¹ et une concentration inférieure à 2 mg Zn.L⁻¹ l'effet d'interaction des deux métaux est synergique (courbe 4). Le FBC est maximum quand la plante est traitée avec 1 mg Cu.L⁻¹ et 2 mg Zn.L⁻¹, dans ce cas la quantité du zinc accumulée par *A. pinnata* est $188,66 \pm 5,03$ mg Zn.L⁻¹.

Le comportement de la plante sur l'accumulation du zinc ne varie pas pour les 3 concentrations du cuivre testées avec une concentration du zinc est inférieure à 3 mg.L⁻¹ (courbe 4). La valeur du FBC obtenue avec 1 mg Cu.L⁻¹ est plus grande que celle obtenue avec 2 mg Cu.L⁻¹, elle est encore plus grande que celui obtenue avec 0,5 mg Cu.L⁻¹. De ce fait, le FBC de *A. pinnata* est maximal quand la concentration du cuivre est égal à 1 mg.L⁻¹ et celui du zinc à 2 mg.L⁻¹. Sur ce point, le FBC est égal à 94 et la quantité du zinc accumulée est égale à $188,66 \pm 5,03$ mg.kg⁻¹, le taux d'élimination du zinc par *A. pinnata* est alors de l'ordre de 74,90%. Aussi, quand les concentrations du zinc sont 1 ; 2 et 4 mg Zn.L⁻¹ son effet d'interaction avec le cuivre est

synergique, toute augmentation du cuivre favorise le taux d'accumulation du zinc par la plante ainsi que son FBC. Par contre, lorsque la concentration du zinc est égale à 3 mg.L⁻¹, les effets d'interaction des deux métaux sont antagonistes quel que soit le taux du cuivre.

Comme l'étude avec le manganèse, les effets d'interaction du zinc avec le cuivre sont hautement significatifs vu sur l'accumulation du zinc par *L. aequinoctialis* et *A. pinnata* ($p < 0,001$). Les deux plantes ont des capacités d'accumuler du zinc et qui sont testées en fonction de différente concentration du cuivre. Cependant, après 4 jours de traitement nous trouvons une différence entre *L. aequinoctialis* et *A. pinnata* sur le comportement de l'élimination et la bioconcentration du Zn. *A. pinnata* accumule plus du Zinc que *L. aequinoctialis*. Le FBC maximal des deux plantes est différent, celui *L. aequinoctialis* est de 74, valeur obtenue avec 0,5 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹ (le FBC de *A. pinnata* sur ce point est égal à 80) et celui de *A. pinnata* est de 94, valeur obtenue avec 1 mg Cu.L⁻¹ et 2 mg Zn.L⁻¹ (le FBC de *L. aequinoctialis* sur ce point est égal à 71).

IV. CONCLUSION

La concentration [35], [36] et la forme biodisponible du métal dans le milieu aquatique sont des paramètres critiques pour son absorption par les plantes. Le pH et les paramètres physico chimiques du milieu nutritif sont des variables qui pilotent ces deux paramètres [37], [38]. Mais, nous ne pouvons pas négliger l'effet d'interaction qui existe entre les éléments nutritifs existants dans le milieu car ce paramètre influence aussi la capacité d'absorption et le FBC de la plante [32]. La courbe d'action d'un élément dépend non seulement de la nature du sujet (espèce et âge) mais aussi des conditions d'alimentation et des effets des autres éléments minéraux [39]. En général, une forte valeur du FBC indique que le taux d'accumulation du métal dans les tissus est important et sur laquelle indique que cette plante peut être utilisée dans le système de la phytoremédiation [40].

D'une manière générale, les résultats obtenus confirment que *A. pinnata* accumule plus de métaux lourds que *L. aequinoctialis* en présence du cuivre et l'effet d'interaction du zinc est plus significatif que celui du manganèse. Contrairement aux résultats de [41], ils ont trouvé que la lentille d'eau accumule le Mn 30 à 40 fois plus supérieures que le Zinc dans leurs tissus. Cependant, il faut noter que les comparaisons par rapport aux données bibliographiques sont à relativiser car la mesure de la sensibilité aux métaux peut être influencée par plusieurs facteurs liés directement à la nature des dispositifs expérimentaux utilisés. La durée du traitement est également un paramètre important à ce type d'expérimentation et peut influencer la mesure.

Les deux plantes accumulent les deux métaux à des taux différents, la faible absorption à grande concentration du métal dans le milieu marque l'effet de sa toxicité sur la plante et nous trouvons que dans toutes compositions, quand la concentration des deux métaux est faible (Cu= 0 mg.L⁻¹; Mn

ou Zn = 1 mg.L⁻¹), les plantes absorbent presque la totalité du métal dans la solution, le taux d'absorption minimal est de l'ordre de 88,27%. Aussi, le pourcentage d'absorption diminue quand que la concentration des métaux augmente.

Pour le manganèse, la quantité maximale absorbée par *A. pinnata* est de l'ordre de 361,36 mg Mn.kg⁻¹ obtenue avec le traitement de 1 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹ tandis que de l'ordre de 269,37 mg Mn.kg⁻¹ pour *L. aequinoctialis* obtenue avec la concentration de 0,5 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹. Toutefois, *A. pinnata* accumule un taux maximal de 362,25 mg.kg⁻¹ de zinc dans son tissu, accumulation obtenue avec la concentration de 1 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹ et *L. aequinoctialis* accumule 297,96 mg Mn.L⁻¹ obtenue avec le traitement 0,5 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹. Ainsi, l'effet d'interaction du zinc avec le cuivre et celle du cuivre avec le manganèse sont synergiques chez *A. pinnata* pour les concentrations de 1 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹ ou 4 mg Zn.L⁻¹. Tandis que, chez *L. aequinoctialis* l'effet des interactions entre le cuivre et le manganèse est favorable sur l'accumulation du manganèse pour 0,5 mg Cu.L⁻¹ et 4 mg Mn.L⁻¹ et il en est de même sur l'effet d'interaction du cuivre avec le zinc, l'interaction est synergique à 0,5 mg.L⁻¹ et 4 mg Zn.L⁻¹. Concernant les FBC, comme la quantité accumulée dans chaque plante, les FBC estimés chez *A. pinnata* sont supérieurs à ceux de *L. aequinoctialis*, tant pour le zinc que pour le manganèse. Ils sont respectivement 90 (obtenue avec les concentrations de 1 mg Cu.L⁻¹; 4 mg Mn.L⁻¹) et 88 pour le manganèse (obtenue avec les concentrations de 2 mg Cu.L⁻¹; 2 mg Mn.L⁻¹). Tandis que 94 (obtenue avec les concentrations de 1 mg Cu.L⁻¹; 2 mg Zn.L⁻¹) et 74 (obtenue avec les concentrations de 0,5 mg Cu.L⁻¹; 4 mg Zn.L⁻¹) pour le Zinc. En tenant compte de la tolérance, de la capacité d'accumulation, *A. pinnata* montre des potentialités réelles pour d'éventuelles applications dans la phytoremédiation des eaux usées contaminées par du cuivre, du zinc et du manganèse. Mais si nous comparons ces deux lentilles d'eau à d'autres plantes aquatiques comme *Eichhornia*, *Spirodela*, *Salvinia*, elles montrent un potentiel d'accumulation des métaux lourds Cu, Zn, Mn fort intéressant [28], [42].

REFERENCES

- [1] Matthew, J. M., et Kochian, L. V., 2008. Investigating Heavy-metal Hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a Model System. *Annals of Botany*. 102, 3-13.
- [2] Vimal, P. C., 2012. Phytoremediation of heavy metals from fly ash pond by *Azolla caroliniana*. *Ecotoxicology and Environmental*. 82, 8-12.
- [3] Merve, S., Amine, A.T., Erdal, O., Ahmet, S., 2015. The potential of *Lemna gibba* L. and *Lemna minor* L. to remove Cu, Pb, Zn, and As in gallery water in a mining area in Keban, Turkey. *Journal of Environmental Management*. 163,246-253.

- [4] Costa, M.L., Santos, M.C.R., Carrapico, F., Pereirac, A.L., 2009. *Azolla-Anabaena's* behavior in urban wastewater and artificial media-Influence of combined nitrogen. *Water Resource*. 43, 3743- 3750.
- [5] Iram, S., Ahmad et I., Riaz, Y., Zahara, A., 2012. Treatment of Wastewater by *Lemna minor*. *Pakistan Journal of Science*. 44, 553-557.
- [6] Syeda, H. B., Iftikhar, A., Muhammad, M.H., Ashiq, M., 2016. Phytoremediation potential of *Lemna minor* L. for heavy metals. *International Journal of Phytoremediation*. 18, 25-32.
- [7] Dana, A. M.B., 2015. Potential of some aquatic plants for removal of arsenic from wastewater by green technology. *Limnological Review*. 15, 15-20.
- [8] Dirilgen, N., 2011. Mercury and lead: assessing the toxic effects on growth and metal accumulation by *Lemna minor*. *Ecotoxicology Environment*. 74, 48-54.
- [9] Jenner, H., Janss-Mommen, J., 1989. Phytomonitoring of pulverized fuel As leachates by the duckweed *Lemna minor*. *Environmental Bioassay Techniques and their Application*. 361-366.
- [10] Razafitsalama, M., Falihery R., Rakotondraibe, J., 2012. Valorisation d'une plante aquatique dénommée *Lemna paucicaustata* en épuration d'eaux usées domestiques en pisciculture. Antananarivo MADAGASCAR. Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique. Forum de la Recherche Scientifique.
- [11] Raja, W., Rathaur P., John S.A., Ramteke P.W., 2012. *Azolla-Anabaena* association and its significance in supportable agriculture. *Journal Biological and Chemistry*. 40, 1-6.
- [12] Mandal, U. K., Singh, G., Victor, U.S., Sharma, K.L., 2003. Green manuring: its effect on soil properties and crop growth under rice- wheat cropping system. *European Journal of Agronomy*. 19, 225-237.
- [13] Taylan K. et Mustafa, Y., 2019. Growth performance and biochemical profile of *Azolla pinnata* and *Azolla caroliniana* grown under greenhouse conditions. *Archives of Biological Sciences*. 71, 475-482.
- [14] Brown, B., et Britton, N., 1970. An illustrated Flora of the Northern United States and Canada. New York . Vol. 3.
- [15] Hillman, W., et Culley, D., 1978. The Use of Duckweed the rapid growth, nutritional value, and high biomass productivity of these floating plants suggest their use in water treatment, as feed, crops, and in energy-efficient farming. *American Scientist*. 66, 442-451.
- [16] Bennicelli, R., Stepniewska, Z., Banach, A., Szajnoch, K., Ostrowski, J., 2004. The ability of *Azolla caroliniana* to remove heavy metals (Hg(II), Cr(III), Cr(VI)) from municipal waste water. *Chemosphere*. 55, 141-146.
- [17] Zhang, X., Lin, A.J., Zhao, F.J., Xu, G.Z., Duan, G.L., Zhu, Y.G., 2008. Arsenic accumulation by the aquatic fern *Azolla*: Comparison of arsenate uptake, speciation and efflux by *A. caroliniana* and *A. filiculoides*. *Journal of Environment Pollution*. 3, 1149-1155.
- [18] Rakotondraibe, J., 2010. Qualité sanitaire du cresson produit dans le site le plus pollué de la Commune Urbaine d'Antananarivo Madagascar. *Chimie de l'Environnement, Université d'Antananarivo*.
- [19] Andrianavoravelona, J.O., Ramaroson, J.D.D., Ranaivojaona, M.S., Rakotosaona, R., Andrianary, P., Rasolofomanana, L., Andrianavo, L., 2015. Etude d'impact de la pollution fécale sur l'environnement et la qualité des eaux en milieu défavorisé: cas de Belanitra. *Mada-hary*. 3, 47-56.
- [20] Ibrahirnzadeh, M. H., 1984. Physiologie végétale : "Nutrition et absorption". Université de Téhéran. Vol. 2.
- [21] OCDE, 2006. Guidelines for the testing of chemicals: *Lemna* sp. Growth Inhibition Test.
- [22] Falihery, R., 2012. Etude de la phytotoxicité du cuivre chez les plantes *Nasturtium officinale* et de *Lemna paucicaustata*: Détermination de la Concentration Sans Effet Observé et de la Concentration Inhibant 50% de la biomasse. Mémoire pour l'obtention de Diplôme d'Etudes approfondies en Chimie de l'Environnement.
- [23] OCDE, 1998. Milieu de culture et d'essai pour *Lemna minor* (milieu de croissance SIS).
- [24] Dunbabin, J.S., Bowmer, K.H., 1992. Potential use of constructed wetlands for treatment industrial waste water containing metals. *Scieinces Total Environment*. 111, 151-168.
- [25] Jitar, O., Teodosiu, C., Oros, A., Plavan, N.M., 2015. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms from the Romanian sector of the black sea. *New Biotechnology*. 32, 369-378.

- [26] Ater, M., Ali, N. A., Kasmi, H., 2006. Tolérance et accumulation du cuivre et du chrome chez deux espèces de lentilles d'eau : *Lemna minor* L. et *Lemna gibba* L. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Sciences*. 1, 57–67.
- [27] Duman, F., Leblebici, Z., Aksoy, A., 2009. Bioaccumulation of nickel, copper, and cadmium by *Spirodela polyrhiza* and *Lemna gibba*. *Journal Fresh water and Ecology*. 24.
- [28] Gothberg, A., Greger, M., Holm K., Bengton, B.E., 2004. Influence level on uptake and effects of mercury, cadmium and lead in water spinach. *Environment Quality*. 33, 1247–1255.
- [29] Zayed, A., Gowthaman, S., Terry, N., 1998. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. *Journal Environment Quality*. 27, 715–721.
- [30] Mountouris, A., Voutsas E., Tassios D., 2002. Bioconcentration of heavy metals in aquatic environments: the importance of bioavailability. *Marine Pollution Bulletin*. 44, 1136–1141.
- [31] Hawker, D., et Connell, 1991. An evaluation between bioconcentration factor and aqueous solubility. *Chemosphere*. 23, 231–241.
- [32] Roger, P., 2011. Les propriétés environnementales des éléments traces. Collège National d'Experts en Environnement de l'Industrie Chimique. Paris.
- [33] Bunluesin, S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Uaphtham, S., Lanzag, R., 2007. Batch and continuous packed column studies of cadmium biosorption by *Hydrilla verticillata*. *Biosciences Bioengineering*. 103, 509–519.
- [34] Sela, M., Garty, J., Tel-Or, E., 1989. The accumulation and effect of heavy metal on the water fern *Azolla filiculoides*. *New Phytologist*. 112, 7–12.
- [35] Gupta, M., Rai, U.N., Tripathi, R.D., Chandra, P., 1995. Lead induced changes in glutathione and phytochelatin in *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle. *Chemosphere*. 30, 2011–2020.
- [36] Rai, U.N., et Chandra, P., 1992. Accumulation of copper, lead, manganese and iron by field population of *Hydrodictyon reticulatum* L. *Science Total Environment*. 116, 203–211.
- [37] Wang, W., 1990. Literature review on higher plants for toxicity testing. *Water Air Soil Pollutions*. 59, 381–400.
- [38] Rashmi, V., Surindra, S., 2015. Lead and cadmium removal from water using duckweed – *Lemna gibba* L.: Impact of pH and initial metal load. *Alexandria Engineering Journal*. 54, 1297–1304.
- [39] Behrouz, E. M., 1995. Décontamination des sols contenant des métaux lourds à l'aide de plantes et de microorganisme. Université Henri Poincaré. Nancy 1 France: Biologie végétale.
- [40] Hazrat, A., Ezzat, K., Muhammad, A. S., 2013. Phytoremediation of heavy metals— Concepts and applications. *Chemosphere*. 91, 869–881.
- [41] Vlatko, K., Željko, J., Dijana Đ., Miljan B., Slađana K., (2015). *Lemna minor* L. as Bioindicator of heavy metal pollution in Dsadar Lake (Montenegro) Kragujevac. *Journal of Sciences*. 37, 123–134.
- [42] Cutcheon, S.C., et Schnoor, J.L., 2003. Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants. New York. : John Wiley and Sons, Overview of phytotransformation and control of wastes. 3–58.